Microbiología Española

I
1

MCMXLVII

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
28 MAR 1960

SUMARIO

Conferencias y Comunicaciones

La guerra bioparasitológica, por el Dr. Luis Nájera Angulo.

Vacunoterapia de la tuberculosis experimental, por el Dr. Gastón de Iriarte Sanchíz.

Una cepa española del Myc. Leprae, por el P. Juan Puiggrós, S. I.

La sexualidad en una raza española de Sphaceloteca Sorghi, por Manuel J. de Urríes.

Técnica para la extracción de sangre de animales de laboratorio y su aplicación al hemocultivo seriado en ratones, por el Dr. R. Ibáñez González.

Aportación al conocimiento de las Bartonelas bovinas, por Isidoro García Rodríguez.

Actas de la Sociedad:

Acta de la Sesión del día 19 de Junio de 1946.
Acta de la Sesión del día 8 de Julio de 1946.
Acta de la Sesión del día 7 de Octubre de 1946.
Acta de la Sesión del día 4 de Noviembre de 1946.
Acta de la Sesión del día 2 de Diciembre de 1946.

Otras Actividades de la Sociedad:

Carta dirigida a los Sres. Socios por la Sección de Biblioteca de la Sociedad.
Primera lista de Sres. Socios.
Bibliografía.

SE SUPLICA EL CAMBIO
ON DÉSIRE L'ÉCHANGE
MAN BITTET DEN WECHSEL
WE BEG THE CHANGE

TODA LA CORRESPONDENCIA A NOMBRE DE DON LORENZO VILAS, CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS, CALLE DE SERRANO, 121 — MADRID

MICROBIOLOGIA ESPAÑOLA

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/international-microbiology_1947_1_1

Francisco Franco Bahamonde, Jefe del Estado español, cuya protección a las Ciencias, por mediación del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, fundado por su alta iniciativa, hace posible la aparición de esta Revista.

Microbiologia Española

I
1

MCMXLVII

Talleres Gráficos MONTAÑA — Mancebos, 3 — Teléf. 27-45-73 — Madrid

Presentación

La revista «MICROBIOLOGIA ESPAÑOLA» cuyo primer número tengo el honor de prologar, es el órgano de la Sociedad de Microbiólogos Españoles y viene a cumplir una de las principales finalidades de la Sociedad, en las tareas de fomentar, facilitar y aunar los trabajos de investigación microbiológica en todas sus ramas.

El éxito inicial de la Sociedad al lograr reunir como socios numerarios y corporativos a la mayoría de los que en España trabajan directamente en temas microbiológicos, a Centros oficiales dedicados a la investigación, a Centros docentes y a Laboratorios de investigación de firmas industriales, cuyas actividades se relacionan con las ciencias microbiológicas, permite esperar que «MICROBIOLOGIA ESPAÑOLA» habrá de contar con muchas y valiosas colaboraciones y, por ello será un completo exponente de la labor de todos los microbiólogos españoles, cualquiera que sea su especialización, científica pura, médica, veterinaria, industrial o agrícola.

La sección más amplia de la revista estará consagrada a la publicación de trabajos extrictamente originales, después de su lectura y discusión en las Sesiones

científicas de la Sociedad. La Comisión rectora de la revista puede aceptar o no los trabajos para la publicación aunque la aceptación no significa, en ningún caso que la Sociedad se hace solidaria de las opiniones y teorías sustentadas, que quedan de la exclusiva responsabilidad de los autores.

Otras secciones de «MICROBIOLOGIA ESPAÑOLA» estarán dedicadas a bibliografía, en algún caso con extracto de trabajos publicados en otras revistas científicas, resumen de actas de las sesiones y breves noticias de interés para los socios. Se aspira a reunir en la Sección bibliográfica no solo una selección de referencias actuales sino, también, una completa relación de todos los trabajos de microbiólogos españoles, antiguos y modernos.

El Consejo Superior de Investigaciones Científicas patrono de la Sociedad de Microbiólogos Españoles, patrocina también a su revista que se honra en formar desde su primer número entre las muchas y muy notables que el Consejo edita. «MICROBIOLOGIA ESPAÑOLA» se complace en su primer número en ofrecerse a la Sociedad Internacional de Microbiología a la que nuestra Sociedad está adherida.

Y ahora que Dios ampare nuestro esfuerzo en bien de la Ciencia española.

El Presidente de la Sociedad de Microbiólogos Españoles

JUAN MARCILLA ARRAZOLA

«LA GUERRA BIOPARASITOLÓGICA»

Conferencia pronunciada en sesión extraordinaria por

Luis Nájera Angulo

Ilmo. Sr. Presidente, señoras y señores, mis distinguidos y queridos consocios: Nos hemos reunido aquí para iniciar un ciclo de conferencias, que es el primero en la vida de Nuestra Sociedad. Seguros del brillante porvenir que la está reservado, podríamos añadir que nos hallamos, por tanto, en un momento histórico de su vida, porque, incluso la gran Historia, se fabrica también, silenciosa y oscuramente, en pequeños cenáculos como éste. Si me permito llamar vuestra atención sobre esta circunstancia es porque creo que todo en este mundo tiene su técnica, su *modus operandi*, aspecto que, tratándose de microbiólogos, no podía ser desatendido ni, mucho menos, olvidado.

En efecto, esta primera conferencia podía celebrarse, evidentemente, de dos modos muy distintos: uno, trayendo a esta tribuna a cualquiera de las ilustres personalidades de gran relieve científico que integran nuestra Sociedad; otro, confiando esta misión al último de sus miembros. El primer método ofrecía el gravísimo inconveniente que toda elección plantea cuando hay que optar por una sola de entre múltiples posibilidades igualmente excelentes. El segundo brindaba, en cambio, una solución sencilla y rápida; como que su designación era automática: tal es la causa de que en estos momentos me dirija a vosotros confiado en vuestra discreción y benevolencia.

No creo que sobre antes de entrar en el tema de esta conferencia alguna consideración preliminar.

En primer lugar, creo necesario justificar el hecho de que esta conferencia me haya decidido a escribirla, convirtiendo así el monólogo en lectura forzosamente monótona, porque se trata de un arte difícil con el que no pretendo estar favorecido.

Pero aún a riesgo de ésto no he tenido más remedio que expresar

por escrito mi pensamiento para eludir los peligros que en momentos de tensión internacional como los actuales podrían derivarse dentro y fuera de nuestra patria, de una interpretación errónea o mal intencionada de cuanto aquí se dijese.

Pero entonces, pensaréis, ¿es que pretendo hacer descubrimientos sensacionales? No; en modo alguno. La razón es simplemente que debo desarrollar el tema: «la guerra bioparasitológica» en un momento en que, como se ha dicho, el mundo ha visto el fin de la guerra, pero no el comienzo de la paz; es decir, que seguimos viviendo momentos de inquietud y desasosiego en los cuales a muchos puede parecer demasiada reiteración seguir hablando de guerra y a otros, quizá no en menor número, que es demasiado pronto volver a ocuparnos de ella.

En esta situación de extremada delicadeza, lo peligroso no es tanto lo que yo vaya a decir aquí, sino lo que por ahí fuera y aún lejos de nuestro ambiente técnico, puedan atribuirme la maledicencia o el error; peligro que entiendo obligado evitar no sólo por lo que a mí particularmente se refiere, sino por el daño que supondría para el prestigio de nuestra Sociedad. Por ello me ha parecido oportuno que nosotros, tan avezados en la profiláxis de las enfermedades microbianas, no olvidásemos este matiz de la cuestión, y nada mejor a tal finalidad profiláctico que el testimonio escrito de estas cuartillas.

Tampoco podemos olvidar que la índole del tema me obligará a entrar, siquiera sea con paso leve, en terrenos que hasta hoy parecían vedados al biólogo. Ahora bien, como biólogos tenemos confiada a nuestros cuidados la vida de las plantas, de los animales y de las personas; somos todos, en una palabra, médicos; médicos de los seres vivos, y sabemos por ello con cuánta frecuencia es puesta a prueba por los profanos, aficionados a la Medicina, nuestra tolerancia y espíritu de comprensión. No pretenderemos nunca que las faltas ajenas justifiquen las nuestras, pero tampoco vamos a incurrir en la escrupulosidad exageradamente rigorista de no tomar el aire que llega a nuestras propias fronteras, venga de donde viniere. Conste, pues, por adelantado, que nos asomaremos al campo de la estrategia o al de la política, pongo por caso, con la circunspección y el respeto que nos merece toda técnica extraña, pero con la decisión y, ¿por qué no decirlo?, el entusiasmo que sentimos por la que no es propia.

No quedan limitados a los expuestos, ni mucho menos, los escollos que tenemos que salvar juntos, si queremos enfrentarnos seria y honradamente con el problema de la guerra bioparasitológica.

Es sabido que, antes de abordar un tema cualquiera, el investigador concienzudo debe estudiar la bibliografía del mismo. Cajal, que a sus méritos como histólogo sumó el de ser quizá el más ilustre precep-

tista de la investigación científica contemporánea, así lo recomendaba a sus discípulos. Nosotros todos, que podemos contarnos entre éstos, no vamos a olvidar el precepto. Pues bien, la dificultad surge cuando nos encontramos con que el tema carece de antecedentes bibliográficos o, para ser más exactos, que éstos son negativos.

Permitidme una breve explicación. En primer lugar, la guerra biológica de que se viene hablando y escribiendo desde hace muchos años, nació impregnada de un sentido u orientación que llamaré *metropolitano* para designarlo con una sola palabra. En efecto, la Microbiología aplicada ha sido hasta anteayer principalmente bacteriana porque nació en Europa, y en nuestro continente de naciones metropolitanas, las afecciones infecto-contagiosas dominantes son las de etiología bacteriológica.

Para destacar aún más los contornos de este sucinto esquema añadiré que la Microbiología parasitaria ha sido, por el contrario, una Microbiología, reservada, o, menor aún, relegada a las colonias. Quiero significar con esto que la mentalidad de los microbiólogos europeos —maestros y rectores hasta hace muy poco de los del resto del mundo— es fundamentalmente bacteriana. Así se explica, a mi juicio, que al pretender aplicar la Microbiología a la guerra se haya hecho siempre pensando en las bacterias. Podremos prescindir de la explicación, pero debemos retener el hecho de que hasta ahora no se haya hablado más que de la *guerra bacteriológica*.

Ahora bien, esta guerra bacteriológica por muchas razones, en especial las que se refieren a las técnicas que es preciso poner en juego, nada tiene que ver o muy poco con la guerra bioparasitológica. De esta escasa relación que puede existir entre ambas importa destacar un aspecto, que es el siguiente: muchos microbiólogos expertos, que ni siquiera se han interesado por la cuestión, saben, no obstante, las enormes dificultades, o todavía más concretamente, la imposibilidad casi absoluta con que se tropezaría para utilizar las bacterias con fines bélicos y de aquí el escepticismo bien fundado con que han acogido en general los trabajos y publicaciones sobre el tema, por lo regular de pseudo literatura científica, poco atrayente, por tanto, para un espíritu crítico.

Quiero insistir, pues, en que el problema de la guerra bioparasitológica hay que considerarlo a la luz de principios fundamental y esencialmente distintos de los que informan la guerra bacteriológica, ya que, como es bien sabido, la epidemiología de ambos grupos de afecciones (bacterianas y parasitarias) es asimismo diferente. Recordemos que mientras las primeras tienen unos mecanismos de propagación muy variados, y por ello en muchos casos desconocidos y desde luego poco manejables, las segundas, esto es, las afecciones parasitológicas se trans-

miten, única o principalmente, por vectores vivos, en su mayoría del grupo de los artrópodos.

El conocimiento que en los últimos años se ha logrado de las condiciones de vida de estos seres ha permitido conseguir su cría y multiplicación dentro del ambiente del laboratorio o de otros experimentales muy diversos; de análoga manera se ha logrado conseguir en muchos casos su infección por virus, bacterias, protozoos, etc., reproduciendo exactamente la situación en que aquéllos necesitan encontrarse para actuar como vectores de enfermedades en plena Naturaleza.

Este conjunto de conocimientos, ya suficientemente sistematizado para recibir en él toda la específica trama de una ciencia nueva, ha pasado, sin embargo, casi desapercibido. Claro está que tales conocimientos se hallan todavía dispersos en revistas innumerables y, por si fuera poco, que han surgido como fruto de improvisación—parienta muy cercana del empirismo—cuando el ingenio de cualquier investigador se veía obligado a resolver un caso concreto en relación con la Biología de los seres o la Epidemiología de las afecciones a que he venido refiriéndome. No menos cierto, que falta el libro (aunque los hay de técnicas generales, como se sabe, bien conocidos y apreciados) en que tales técnicas se recojan con sentido y unidad de doctrina. Quizá sea pronto para ello; pero no por eso podemos cerrar los ojos ante la realidad, y ésta nos dice que la nueva ciencia ha nacido y se está desarrollando vigorosamente en estos momentos.

Cuando Balard, el descubridor del bromo, enseñó a Pasteur a estirar el cuello de un matraz para impedir la contaminación de su contenido, y cuando, más tarde, el propio Pasteur, Koch y otros (no hace aún cien años) acertaron a cultivar en un tubo de ensayo diversas bacterias patógenas para el hombre y los animales, se abrió—nadie se atrevera hoy a dudarlo—una nueva era para la Medicina; la era pasteuriana en que todavía nos encontramos.

El que los vectores vivos de las afecciones parasitarias (del hombre, de los animales y de las plantas) sean ya en nuestros laboratorios tan cultivables, permitidme la palabra, como las bacterias, es un hecho preñado de posibilidades trascendentes para esa nueva ciencia carente todavía de programas y de libros de texto.

Ahora bien, la vida de la nueva ciencia ha sufrido como ninguna los efectos de la segunda guerra mundial y de esta inquietante vela de armas que la ha sucedido. Siempre han sido las cosas de la guerra secretos de Estado, mejor o peor conservados, pero en los momentos actuales tal criterio parece haberse extendido a muchas cuestiones científicas. Más desorientador a veces que el silencio es la verdad a medias, y, en efecto, se observa en general como si el pasado carácter expansivo

de los cultivadores de la ciencia se hubiera tornado reservado y receloso, como si hubiésemos de caer nuevamente en aquel ambiente hermético de los gremios, en aquella atmósfera esotérica de las escuelas, que tanto contribuyeron a entenebrecer la Edad Media.

Podrá parecer este cuadro demasiado sombrío, pero es lo cierto que, desde 1940, poco útil ha venido a sumarse a las valiosas y prometedoras recopilaciones hechas, por ejemplo, en los Estados Unidos, hasta aquella fecha, en el campo de la Artropocultura, nombre con el que se podía designar esta nueva ciencia, fundamento de cuanto haya de hacerse en la guerra parasitológica.

Llegados a este punto, os diré que, si no una experiencia, tenemos, al menos, un antecedente, modesto como mío; circunstancia que reclama con urgencia la explicación correspondiente. Bastará para ello recordar que cuando, nuestro ilustre vicepresidente, el Profesor Clavero, propuso el tema de esta conferencia y que se me confiara el encargo de desarrollarla, lo hizo basándose en la actualidad del asunto y en que yo me había ocupado del mismo en una revista extranjera.

En efecto, hace unos meses las relaciones profesionales y de amistad que me unen a los Doctores Kourí y Basnuevo, parasitólogos cubanos de universal prestigio, me impusieron la obligación de enviarles un trabajo que tenía escrito hace tiempo sobre la guerra parasitológica y que no me decidía a publicar en España. Quiero insistir en esto para que quede bien explicado por qué se publicó primero en una revista extranjera, si así podemos llamar las que se editan en Hispano-América.

Dada la difusión de la revista citada no puedo, por consideración a vosotros y por respeto a nuestra Sociedad, traer aquí otra cosa que el espíritu o, si queréis, la tésis de aquel trabajo.

Aludía hace un momento al ambiente enrarecido, receloso y esotérico que se cierne sobre el mundo. No creo que sea necesario insistir mucho sobre ello cuando hay medio hemisferio boreal sumido en la niebla de la distancia y el misterio del aislamiento; cuando, en experiencias únicas en la historia de la humanidad, se maneja una nueva energía de insospechada potencia, que podría ser inagotable fuente de bienestar, en las soledades inmensas de los océanos, como si las ideas siniestras de los hombres les empujaran a hurtarlas a los ojos de Dios.

Frente a esto, ¡qué contraste!, un grupo de microbiólogos, con toda la quijotesca ingenuidad de su estirpe de precursores, nos proponemos examinar el tema de la guerra parasitológica. ¿Será acaso que no podemos jugar otro papel? Porque es lo cierto que, en otra encrucijada de la historia, cuando en el siglo xv se empezó a utilizar la artillería, tuvimos también pléyade de precursores, que tales fueron Pedro Navarro, descubridor de los hornillos y minas; Pedro Luis Escrivá, que ya en el

siglo XVI escribió el tratado más antiguo que se conoce de fortificación; Diego de Alava, fundador de la Balística al rectificar los errores de Tartaglia, matemático famoso y único que le precedió, en las primeras tablas que se confeccionaron para calcular el alcance de los cañones, y otros más, sin que por ello dejara de producirse el hecho paradójico de que en aquellos tiempos, de máximo poderío militar de España, los técnicos de nuestros ejércitos se reclutasen en el extranjero. Y no es preciso citar casos más recientes y aún contemporáneos, porque están en la mente de todos, y justificarían el reproche de que somos demasiado aficionados a cultivar el pasado.

Viene esto a cuento de que, en el trabajo aludido anteriormente, llego a la conclusión de que aquella inscripción «ultina ratio regum» (la suprema razón de los reyes), que antes sólo se ponía en las bocas de los cañones, y que la pasada contienda mundial obligó a colocar en los grandes laboratorios industriales, debería figurar también, y con mayor motivo, en todos los laboratorios biológicos, porque la viabilidad de la guerra parasitológica brinda a los pueblos, carentes del poderío industrial y de las riquezas materiales que otros disfrutan, posibilidades insospechadas.

Supone esto un cambio completo en cuanto al concepto de la guerra en sí para el futuro. Este cambio ha sido impuesto por la pasada conflagración, en que se han visto por primera vez hechos nuevos de la mayor trascendencia: 1.º, que grandes masas de población civil, esto es, de personas consideradas hasta entonces como no combatientes, hayan sufrido el ataque concentrado de la aviación y aún de las primeras armas de gran alcance, imponiéndolas, por tanto, riesgos superiores a veces a los corridos por los ejércitos empeñados en las más duras batallas; 2.º, que los grandes centros de producción industrial o minera, o simplemente los grandes nudos de comunicaciones, eran factores tan decisivos en la lucha como las propias fuerzas combatientes, y 3.º, que los laboratorios industriales donde se inventaban las máquinas de guerra, se perfeccionaban los materiales a ellas destinados, se descubrían sustitutivos de materias primas copadas por el enemigo o, en fin, se seguía el ritmo de la producción y del consumo, eran otros tantos centros vitales tan indispensables como los citados anteriormente.

De estos hechos, los dos primeros; es decir, la importancia de ciertos núcleos de población civil y de los grandes laboratorios industriales, se aprendió ya en la guerra del 14, que inició, aunque muy tímida y ligeramente, lo que podríamos llamar su valoración bélica. La del tercero, esto es, la de los laboratorios meramente técnicos o científicos, donde apenas si se reúnen a trabajar una docena de personas, ha sido una revelación de la guerra pasada.

De aquí se deducen dos corolarios evidentes: 1.º, que las guerras futuras serán absolutamente totalitarias o integrales, en cuanto que el conjunto íntegro de la población de los países será considerado beligerante, y 2.º, que los Estados Mayores de los ejércitos en guerra cederán en importancia a los Estados Mayores de la Ciencia y de la Industria.

Cuanto llevamos dicho puede condensarse en dos palabras; dos calificativos bastan para determinar sus características: la guerra futura será *integral* y *científica*.

Por lo que respecta a esta última condición, que es la que me importa, ¿cómo me atrevo a formularla cuando sabemos lo arriesgado de los vaticinios en esta materia? Hasta tal punto es esto cierto que la pasada conflagración dejó muy atrás la previsión de los técnicos y ha consagrado de manera rotunda el error de todos los tratadistas de la estrategia. Para comprobarlo bastará recordar que los principales beligerantes se habían preparado para una *guerra de posiciones* (las famosas líneas Maginot y Sigfrido, que consumieron seguramente más dinero del que hubiera hecho falta para extinguir el paludismo, pongo por caso, en el mundo entero) y resultó una *guerra de movimientos*, sólo comparable a las más célebres campañas de Napoleón o de Alejandro.

¿Por qué, repito, nos atrevemos a calificar de científica la guerra futura?

Veamos qué datos utilizables tenemos para ello. El examen de dos valiosísimos informes relativos a la nación de máxima potencialidad económica de nuestros tiempos me parecen suficientemente demostrativos. Uno de ellos es el presentado por la Subcomisión de Movilización de Guerra al Comité de Asuntos Militares del Senado de los Estados Unidos, de acuerdo con las Resoluciones 107 y 146 de este Alto Organismo Consultivo. El otro es el informe presentado al presidente de los Estados Unidos por el Dr. Vannevar Bush, director de la Oficina de Investigación y Fomento Científico. Los dos documentos han sido publicados en enero de este año.

En el primero se dice que los fondos destinados a la investigación científica, que antes de la guerra alcanzaban la suma de 350 millones de dólares al año, superaron durante aquélla la enorme cifra de 800 millones de dólares, también por año. Para valorar esta cifra, equivalente a más de 15 mil millones de pesetas, bastará recordar que supera la del presupuesto total del Estado español.

En el mismo documento se leen afirmaciones tan concluyentes como éstas:

«La investigación militar y la investigación médica, que mostraron desarrollo tan enorme durante la guerra, deben recibir más apoyo federal que antes; la investigación fundamental en que descansa la ciencia

aplicada, debe recibir cuidadosa consideración. En este sentido, podemos aprender mucho de Alemania que auspició un plan floreciente de investigación en ciencias básicas.»

He aquí otra afirmación no menos interesante:

«Una nación sana y protegida contra la enfermedad y preparada para descubrir ésta y atajarla si es necesario, constituye una nación bien fortificada en su primera línea de defensa.»

Veamos todavía alguna más:

«Los hombres de ciencia y los técnicos forman la mayor parte del capital de la nación. A fin de conocer el personal disponible y sus capacidades se estableció en julio de 1940, casi año y medio antes de Pearl Harbor, un Censo Nacional de Personal Científico y Especializado, en el que llegaron a filiarse 450.000 personas.»

En cuanto al informe del Dr. Bush, convendrá destacar que a pesar de las enormes sumas destinadas a la investigación científica, se hagan en él afirmaciones como ésta:

«La ciencia se ha quedado entre bastidores y hay que llevarla al centro del proscenio, pues en ella reposan muchas de nuestras esperanzas para el futuro.»

«Según señaló el Presidente Roosevelt, las muertes producidas por una o dos enfermedades solamente exceden con mucho al total de vidas perdidas en los campos de batalla durante esta guerra.»

Para el Dr. Bush el objetivo principal es la investigación; no el perfeccionamiento de la asistencia. Por esto, añade:

«Por útil que sea el aumento de hospitales, médicos y mecanismos para la dispersión del saber, no puede aportar una solución completa, pues francamente hay que proclamar que no sabemos todavía bastante, y el aumento de los medios de asistencia médica no facilitará las respuestas que hacen falta.»

Aún remacha su argumentación, diciendo en otro lugar:

«La tremenda y peligrosa batalla librada contra el submarino, fué una batalla de técnica científica... Los nuevos ojos con que nos ha provisto el radar, pueden ser cegados por nuevas proezas científicas. Contra el V-2 no hubo más remedio que la captura de los sitios de donde lo lanzaban... La investigación es capital científico; además no podemos ya contar con Europa como foco principal de este capital.»

Y propone un plan para la Oficina que dirige, que supone la creación, entre otras cosas, de 24.000 becas para estudiantes y un presupuesto que alcanzará la cifra de más de 122 millones de dólares (más de 2.000 millones de pesetas), de los cuales, mientras la sexta parte se destinaría a investigación médica, cerca de la mitad (unos 1.000 millones de pesetas) lo serían a Ciencias Naturales.

La lectura de estos datos, me diréis y muy fundadamente, no demuestra, ni que de los 15.000 millones destinados a la investigación científica de aplicación bélica, ni de los 2.000 dedicados a las investigaciones médicas e histórico-naturales con idéntico objeto, se vaya a distraer una sola peseta para experiencias o laboratorios que tengan por finalidad la guerra bioparasitológica. Cierto, como también espero estaréis de acuerdo conmigo en reconocer que tampoco en esos informes, a pesar de su extensión, se dice nada respecto a las investigaciones atómicas.

Sin embargo, la lógica más elemental nos dice que estas investigaciones se prosiguen y que, en el mejor de los casos, sus cifras presupuestarias están incluídas en aquellos ingentes guarismos. No podríamos aplicar esta misma lógica al caso de la guerra bioparasitológica, porque en esta cuestión de extremada delicadeza no podemos actuar por deducción, y todo dato de certeza nos falta para poder afirmar que en una nación tan celosa del respeto que se debe a la vida y a la libertad de los humanos, se intente siquiera la elaboración de proyectos con dicha finalidad.

Pero este no es el caso, como sabemos, de las demás naciones del mundo. Y ahí tenemos lo que ocurre con la guerra química, condenada por ilícita en el Tratado de Versalles (1919), en el de Wáshington (1922) y en el llamado Protocolo de Ginebra (1925), así como más tarde por diferentes acuerdos de la Sociedad de Naciones y de las Conferencias de Limitación de Armamentos. A pesar de ello, algunas de las naciones beligerantes en la última contienda tenían organizada la guerra química y todas, desde luego, la llamada defensa pasiva. Que las investigaciones en este sentido no cesaron un punto lo confirma el que, muy recientemente, en junio de este año, la «Monthly Science News», ha publicado la noticia de haberse descubierto, por un grupo de Químicos de Oxford (Peters, Stroken y Thompson), una sustancia, la *clorovinildicloroarsina*, que es un antídoto magnífico de las lesiones cutáneas o cutáneo-mucosas de la lewisita (quizá el más activo de los gases de guerra), y por otro grupo de Químicos de Cambridge, la B A L intravenosa (así llamada de British Anti-Lewisita, por los americanos), que neutraliza la intoxicación general producida por el mismo gas citado.

Si a las circunstancias apuntadas se suma que no todos los países han publicado, como lo han hecho los Estados Unidos, las líneas generales de sus programas de investigación en relación con la guerra, pero que no hay duda han de ser también importantes; que la idea de aplicar los gérmenes productores de enfermedades es ya antigua, puesto que fué tomada en consideración en la guerra del 14, y que, en fin, en algún lugar del mundo, como ahora se dice, se han instalado grandes laboratorios con fines biológicos muy similares, creo que estamo auto-

rizados a suponer que la guerra bioparasitológica es un tema que se halla, al menos, en estudio.

Esta faceta de la cuestión no nos importa grandemente y podemos dejarla, en este estado de nebulosa, reducida a la condición de incógnita, porque, con independencia de que vaya o no a utilizarse, de que exista o no quien se ocupe de ella, lo que en realidad nos interesa en este momento es considerar cuáles sean sus posibilidades.

Es decir, que si hasta aquí hemos examinado la situación espiritual del mundo, que a mi juicio hace posible plantear hoy el problema de la guerra bioparasitológica y aportar algunos datos más o menos relacionados con tan delicada cuestión, en este momento he de abordar algunos de los aspectos concretos de la misma.

La circunstancia de haberme ocupado con alguna extensión del tema recientemente, me dispensa aportar aquí citas y enumeraciones más o menos fatigosas que pueden ser consultadas con comodidad en el aludido trabajo.

En primer lugar, cabe preguntarse si la guerra bioparasitológica es hoy posible en lo que respecta a realización material, no en cuanto a eficacia que es como se comprende, otro problema. Ahora bien, esa posibilidad supone dos aspectos: el científico, en cuanto podamos disponer de vectores vivos capaces de actuar como agentes de dispersión y de infección de determinados virus, y el técnico, que envuelve implícitamente la de utilizar cantidades ingentes, cifras colosales, que recuerdan las manejadas en la Astronomía, de aquellos vectores.

Del aspecto científico me ocuparé en seguida. En cuanto al técnico, la posibilidad de lograr esas cantidades fabulosas de vectores vivos descansa en la enorme capacidad reproductora de los Artrópodos. Para no referirme más que a cálculos bien conocidos citaré que Roubaud, por ejemplo, estima la descendencia de una mosca doméstica desde el 1 de mayo al 30 de septiembre, sobre la hipótesis de que cada puesta sea de 100 huevos, cifra inferior a la real, en 3.985 billones, esto es, un 4 seguido de 15 ceros. Newitt ha demostrado que cada mosca puede dar un número de huevos seis veces mayor, como mínimo, que el adoptado aquí como base.

Veamos un cálculo para los mosquitos. Guiart lo ha hecho para los del género *Culex*. pues bien, según este parasitólogo una hembra que ponga 200 huevos, suponiendo que las puestas sucesivas sean de igual número y que las generaciones estén separadas por seis semanas, originaría 64 billones de descendientes, o sea poco más de un 6 seguido de 12 ceros.

Para darnos idea de lo que son estas cifras, recordaré simplemente

que un año-luz son 94 billones 608 mil millones de metros; es decir, que no llega a ser un 1 seguido de 14 ceros. Cantidad inferior a las que representa la descendencia de una sola mosca.

Ya veremos más adelante, aplicando los cálculos a un caso concreto, que ello está dentro de las posibilidades humanas gracias a las maravillas que logran la división y racionalización del trabajo. La guerra pasada ha batido marcas gigantescas en orden a la producción de material bélico, pero como en cierto modo esto era de esperar, me limitaré a poner un solo ejemplo relativo a una técnica nacida y desarrollada durante ella. En el laboratorio de ensayos de carreteras de Hardmondsworth, cerca de Londres, se descubrió un material nuevo de revestimiento, el P. B. S., que permite el acondicionamiento rápido de las pistas de los aerodromos, y, por tanto, la improvisación de éstos; pues bien, con dicho material se han preparado en el último año de la guerra 17 millones de metros cuadrados de pistas de despegue y aterrizaje para aviones.

En estos momentos se están realizando ensayos de tropicalización del suelo o caldeo eléctrico con el fin de lograr obtención rápida de planteles y el consiguiente adelanto de las cosechas.

El manejo, en fin de la energía atómica parece reservar a nuestro siglo sorpresas inauditas.

No vale la pena que nos detengamos más tiempo en las dificultades meramente técnicas de la guerra parasitológica. ¡Qué podrían representar frente a las ya vencidas en tantos problemas!

Hace ya varios años que el célebre tratadista militar Vauvenargues, dijo: «Hay que esperarlo y temerlo todo del tiempo y de los hombres.» La frase parece ser una confirmación de aquella otra sentencia terrible, «la guerra es la guerra», con la que se han justificado en todo tiempo los excesos más abominables, y de cuya vigencia las actuales generaciones han recibido pruebas bien concluyentes.

Por ello, aunque no podamos olvidar el aspecto moral de la guerra bioparasitológica, tenemos que reconocer que, hasta el momento actual, ninguna norma jurídica ha servido para limitar los armamentos.

En efecto, hasta ahora sólo dos tipos de guerra, la química y la bacteriológica, han sido proscritas, y, al parecer, su falta de utilización en la última contienda podría pensarse que obedecía a esta causa. La Química ya hemos visto que lo fué en casi todos los Tratados y Conferencias celebrados después de la guerra del 14, y, sin embargo, todos los países signatarios organizaban lo mejor que podían sus correspondientes defensas pasivas, dando así la impresión al mundo de que admitían por descontado la posible violación de tales pactos.

En cuanto a la guerra bacteriológica, su utilización fué examinada

por la Conferencia del Desarme celebrada en Ginebra, en 1932. Su dictamen fué «que revestía seriedad suficiente para prohibir su empleo», basándose sin duda en el informe presentado diez años antes por Bordet, Cannon, Madsen y Pfeiffer a la Conferencia de Wáshington.

Ahora bien, después de haber visto que cuando se ha tratado de destruir eficazmente un Coventry o un Colonia, un Londres o un Hamburgo, no se han tenido en cuenta más que las necesidades de tipo militar y que éstas mismas impusieron el empleo de la bomba atómica. No incurrimos en la ingenuidad de suponer que aquellos obstáculos jurídicos fuesen la causa de que no se hayan utilizado la guerra química o la guerra bacteriológica.

En efecto, el único requisito que hasta ahora se ha exigido a un arma es su eficacia: la guerra química, para serlo, exije, aparte condiciones atmosféricas especiales y otras de detalle, una importantísima, que es el *factor sorpresa;* pero éste no cabe cuando el enemigo tiene organizada su defensa pasiva. Aquí, como en ninguna otra circunstancia, se ha demostrado la exactitud de la máxima latina: *Si vis pacem para bellum.*

La guerra bacteriológica, en sentido estricto; esto es, la difusión de gérmenes bacterianos por sus mecanismos habituales de propagación, excluído el transporte por agentes vivos, carece de eficacia, según ya consignamos anteriormente. Definimos así la guerra bacteriológica por la necesidad de delimitar su campo de acción, vecino, al fin y al cabo, del de la parasitológica. En esta última incluiremos, por tanto, la peste y la tularemia, en cuanto una y otra sean transmitidas por vectores vivos, como es el caso de las pulgas en la peste bubónica y de diversos artrópodos (piojos, tabánidos y garrapatas) en la tularemia, a pesar de ser bacterias sus respectivos agentes etiológicos. Precisa, por tanto, reiterar la conclusión de que si las normas jurídicas carecen de valor práctico, no queda más que un límite al empleo de toda arma nueva: su eficacia. Por eso se ha dicho hace mucho tiempo, con tanta inexactitud crítica como ironía, puesto que la ametralladora es arma de gran eficacia, pero estrictamente militar, que a ningún Congreso o Conferencia de limitación de armamentos se le había ocurrido condenar su utilización.

De aquí que, si la guerra bioparasitológica llegase a reunir condiciones tales que la hicieran practicable, será lógico esperar su utilización.

Ahora bien, en la guerra puede ser necesario no sólo destruir a los combatientes (incluída, según dijimos, la población civil), sino también las plantas y los animales del enemigo. Por ello convendrá tener en cuenta la posibilidad de las guerras fitológica, agro-forestal y veterinaria. Todas ellas reúnen una circunstancia desfavorable a su empleo;

el de que su repercusión es demasiado lenta. Por otra parte, la guerra veterinaria, a la que de otro modo sería aplicable cuanto se dijese para la especie humana, ha perdido casi toda su significación bélica desde que la tracción animal ha desaparecido prácticamente de los frentes de batalla a causa de la motorización de los ejércitos modernos. Ello no excluye que, en circunstancias especiales, pueda ser utilizable.

Limitándonos por estas razones a considerar en general la guerra bioparasitológica aplicada a la especie humana, fácil se comprenderá que existen numerosas enfermedades cuyos virus y agentes vectores podemos desechar a *priori*. Sistematizando las causas que nos imponen esta selección, tenemos las siguientes:

1.ª Afecciones propias de la infancia o de las edades tempranas de la vida, puesto que actuarían sobre sectores de población de escasísimo o nulo valor; tal, por ejemplo, la leishmaniosis visceral mediterránea.

2.ª Enfermedades producidas por gérmenes desconocidos, no cultivables, o, simplemente, difíciles de obtener *in vitro* o *in vivo;* esto es, no manejables para la técnica parasitológica. Ejemplo de este grupo podrá ser la fiebre amarilla, pero en él deberán colocarse además diversas ricketteiosis: fiebre de Kumaon, tífus de Kenya, pseudo tifus de Nigeria y de Costa de Oro, etc.

3.ª Mecanismo epidemiológico, desconocido o aunque conocido, no influenciable a *distancia* o en condiciones bélicas. Podríamos citar aquí la sífilis, la buba y el grupo de las leptospirosis, desde la espiroquetosis ictero-hemorrágica a la fiebre del lodo o de los pantanos, enfermedad de Stuttgart, etc.

4.ª Agentes vectores que, aunque conocidos, no resulten manejables en el laboratorio o sean demasiado frágiles en las condiciones naturales. Atendiendo al primer aspecto, deberían eliminarse todas las afecciones transmitidas por flebotomos (leishmaniosis, fiebre de pappataci, etc.), y por lo que respecta al segundo, las transmitidas por los piojos; esto es, el tifus exantemático histórico, la fiebre de las trincheras o de Vohlynia, etc.

5.ª Escasa difusibilidad o marcada tendencia a la producción de focos epidémicos limitados. En este grupo deberemos incluir las dos tripanosomiasis africanas (a *Trypanosoma gambiense* y a *T. rhodesiense)* y, con mayor razón, la tripanosomiasis americana.

6.ª Existencia de vacunas de probado valor profiláctico. Por esta causa quedaría eliminada como agente de la guerra bioparasitológica la fiebre amarilla, si ya no la hubiésemos excluído anteriormente, y,

además, la peste que en su forma bubónica es, a diferencia de la pneumónica, afección tributaria por su epidemiología de las técnicas parasitológicas.

Gracias a este criterio ha quedado simplificado el problema, ya que todas las afecciones parasitarias que satisfagan alguna de las seis condiciones citadas quedan excluídas de su posible utilización en la guerra bioparasitológica, al menos, temporalmente; esto es, en tanto no se modifique el estado actual de nuestros conocimientos y con él los recursos técnicos de que disponemos hoy día.

Huelga añadir que, si examinásemos lo que ocurre con las afecciones bacterianas (desde el grupo de las fiebres eruptivas, como propias de la infancia, hasta la viruela y la fiebre tifoidea, por disponerse de vacunas profilácticas), todas, una por una, irían quedando prendidas, como instrumentos no aptos para la guerra bacteriológica, en la malla formada por las seis condiciones repetidas. Otro tanto hay que decir de todas las enfermedades producidas por hongos, sin que valga la pena insistir sobre ello.

Pero el simple hecho de que hayan atravesado tal cedazo—permitidme que siga utilizando el símil anterior—, no quiere decir que sus características sean suficientes. Su utilización en la guerra está condicionada todavía a una serie de circunstancias o factores sin los cuales los virus productores de enfermedades o los agentes vectores que les vehiculan y transmiten no serían instrumentos idóneos. A diferencia de los caracteres citados anteriormente, todos los cuales tenían signo negativo, los que vamos a enumerar ahora tienen, por el contrario, signo positivo; es decir, que aquellos virus o vectores que los reúnan negativo, los que vamos a enumerar ahora tienen, por el contrario, signo positivo; es decir, que aquellos virus o vectores que los reúnan serán tanto más aptos para la guerra cuanto mayor sea el grado en que los posean.

Estos caracteres son los siguientes:

1.º Gran contagiosidad y despersibilidad; ya intrínsecas, ya en relación con las propias del agente vector, pero esta altima dentro de ciertos límites.

2.º Período de incubación pequeño y constante; es decir, fijo.

3.º Comienzo brusco y acompañado de incapacidad funcional.

4.º Carencia de sintomatología típica.

5.º Agente vector que pueda pasar desapercibido.

6.º Capacidad de éste para resistir el ayuno y la separación de su huésped durante cierto tiempo.

7.º Radio de acción relativamente limitado, condición que supone en el vector la posibilidad de fijar, con el carácter del aparto 1.º, el equilibrio conveniente.

8.º Epidemiología bien conocida.

9.º Invulnerabilidad a los agentes químicos e insecticidas conocidos hasta el día, y

10. Ausencia de tratamiento etiológico y de vacunación profiláctico-terapéutica.

Si ahora procediésemos a someter a esta segunda prueba las afecciones parasitarias que resistieron a la primera, según hice en el trabajo a que me he referido más de una vez, nos encontraríamos con que eran muy contadas, en definitiva, las que pueden servir de instrumento en la guerra bioparasitológica. En dicho análisis, que no voy a repetir puesto que está publicado, llegué a la conclusión de que las afecciones utilizables pueden ser agrupadas del modo siguiente:

1.º Enfermedades que requieren perfeccionamientos técnicos:

Transmitidas por dípteros: Enfermedad de Carrión (área limitada).
Dengue (prácticamente cosmopolita).
Fiebre del valle del Rift (limitada).

Transmitidas por ixódidos: Fiebre exantemática mediterránea (área muy extensa).

2.º Enfermedades a punto de ser utilizadas:

Transmitidas por ixódidos: Tularemia (aunque de área todavía mal precisada).
Fiebre recurrente mediterránea (área muy extensa).

Esto quiere decir que si eliminamos las del primer grupo, porque para que sean manejables resta todavía resolver diversos problemas técnicos, no quedan más que dos afecciones, hoy por hoy, realmente utilizables por la guerra bioparasitológica: tularemia y fiebre recurrente mediterránea.

Las dos son transmitidas por ixódidos y la última, especialmente, por argasinos, aunque también puede jugar papel vector la garrapata del perro *Rhipicephalus sanguineus*. Dicha circunstancia es de gran importancia por cuanto los ixódidos y los afanípteros (pulgas) constituyen los dos órdenes de artrópodos quizá más aptos para la guerra. Por otra parte, no podemos olvidar que la tularemia cuenta precisa-

mente a las pulgas entre sus vectores vicariantes; este hecho, es decir, el estudio más profundo de los vectores de este tipo y la adaptación de los repetidos vectores a zonas geográficas distintas de las que integran su área natural de dispersión, constituyen dos interesantísimos problemas abiertos a la investigación y al descubrimiento. Cualquier hecho nuevo que aparezca en este terreno puede abrir horizontes insospechados.

Y ya para terminar estas consideraciones, añadiré que, con lo expuesto, no he pretendido decir lo que puede ser o lo que ha de ser (si es que ha de llegar a realizarse algún día) la guerra parasitológica, sino lo que, a mi juicio, debe ser. Y digo esto, porque deliberadamente no he consignado en aquellas diez condiciones que acabo de enumerar la más importante de todas, condición que no cumplen muchos virus (tales los rickettsias, productores de la fiebre purpúrea de las Montañas Rocosas; el de la fiebre fluvial del Japón, tsutsugamushi o enfermedad de Kedani; y el del tifus de Sao Paulo, el *Spirochaeta duttoni* de la fiebre recurrente africana, y algún otro), pero que sí la satisfacen el *Pasteurella tularensis* y el *Spirochaeta hispánica*. Esta importantísima condición es la de producir escasa letalidad (como ocurre con numerosas cepas del germen de la tularemia), o tadavía mejor, la de que dicha letalidad sea nula, y éste es el caso del virus de nuestra fiebre recurrente.

En más de una ocasión ha asomado, en el curso de estas líneas, el gran problema de la moralidad de la guerra bioparasitológica; problema que os habrá torturado quizá y que ya es llegado el momento de examinar. Porque si, como acabamos de ver, la guerra bioparasitológica nos brinda la oportunidad de eliminar al enemigo mediante la difusión de enfermedades carentes de letalidad, no podemos abrigar ninguna duda acerca de la legitimidad de su empleo. Yo creo sinceramente que por este camino, por el camino de la Biología, el hombre llegará a aunar la moral con la eficacia de la guerra; que logrará manejar armas como ésta que sirvan para vencer sin necesidad de destruir. Si así fuese, la humanidad podrá proclamar ese día que había salido de la era de la barbarie en que está sumida. La eterna pugna, tan antigua como el hombre, entre Marte, personificación de la fuerza, y Minerva, encarnación del espíritu, se habrá dirimido para siempre con el triunfo definitivo de la hija predilecta de Zeus.

Pues bien, si admitimos que la guerra bioparasitológica puede utilizarse, examinemos muy brevemente, porque estamos llegando al final de esta lectura, un episodio concreto de la misma. Supongamos que sobre un área de 30 kilómetros cuadrados (zona vital de una gran ciudad europea de uno a dos millones de habitantes) queremos lanzar un determinado vector patógeno a razón de una densidad media de 100

ejemplares por metro cuadrado. Pues bien, los 3.000 millones necesarios podrían ser obtenidos en un laboratorio que dispusiera de 1.000 cubetas o jaulas de cría y unos 50 laborantes, en el espacio de unas semanas. Dichos 3.000 millones de ejemplares, convenientemente embalados, no ocuparían más de un metro cúbico y su peso (incluído el embalaje) no llegaría a una tonelada. Podrían determinar la producción de 500 mil casos (6.000 ejemplares, término medio, por caso producido) de una enfermedad febril aguada que garantizase la incapacidad funcional de los atacados durante un mes (también por término medio) sin poner en peligro sus vidas, si se utilizaba un virus no letal.

Todo ello—espero que así me lo concedáis—está dentro de lo posible. Pero, aún hay más, y en ello no os voy a pedir concesión alguna. Para no tener que plantear un nuevo ejemplo, en gracia a la brevedad, suponed el mismo caso anterior; pero admitamos por un momento que nos hallamos en el corazón de la ciudad sometida al bombardeo de aquellos 100 ejemplares por metro cuadrado de una garrapata (adulto, ninfa o larva), pongo por caso. La zona afectada habrá quedado materialmente cubierta de ella. Ante el peligro, todos nos dedicaríamos a destruir al invasor: la lucha en las calles sería fácil, pero los ejemplares caídos en los tejados, jardines, patios, etc., seguirían durante varios días realizando una invasión lenta, resultado de la cual sería la penetración en las viviendas. Nadie en aquellos días podría afirmar la naturaleza del virus de que eran portadores: la alarma y la zozobra serían inmensas. Pues bien, nosotros, que estamos en el secreto, sabemos que aquellas garrapatas no estaban infectadas y, sin embargo, se habría realizado una de las más notables estratagemas de la guerra de nervios. Con la ventaja, respecto a otras, de que, repetida, produciría los mismos efectos.

Un último aspecto tenemos que examinar en la guerra bioparasitológica, que supone una ventaja no despreciable. Me refiero a que, mientras la transformación de las industrias de guerra en fábricas para el trabajo de la paz supone un esfuerzo económico considerable y a veces crisis muy penosas, los laboratorios biológicos no tendrían que sufrir modificación alguna. Pero vale la pena—y con esto termino, agradeciéndoos muy vivamente la inmerecida atención que me habéis prestado—, vale la pena, repito, meditar sobre el impulso formidable que las ciencias microbiológicas recibirían en coyuntura semejante y, por tanto, en que las grandes posibilidades que brinda la guerra bioparasitológica sirvan, en definitiva dos grandes fines: intensificar las investigaciones biológicas y humanizar los conflictos bélicos entre los pueblos.

¡Muchas gracias!

VACUNOTERAPIA DE LA TUBERCULOSIS EXPERIMENTAL

E. Gastón de Iriarte Sanchíz

La idea de este trabajo surgió de la consideración de la lentitud de desarrollo del bacilo de Koch, que necesita un tiempo de diez a treinta días para presentar fases aparentes de desarrollo en un cultivo, y otros diez a treinta días para presentar manifestaciones visibles en los animales inoculados; inspirados en los trabajos de Fontés, quisimos comprobar la existencia de fases filtrables del germen y la posibilidad de reconocer algunas formas visibles de bacilos, distintas a las conocidas hasta hoy.

Nuestros estudios se han efectuado durante catorce años, habiendo examinado el bacilo de Koch y las tuberculinas y vacunas conocidas, opinando que es posible que exista una forma distinta de las conocidas hasta hoy, que ha quedado oculta por los defectos de los métodos de coloración o insuficiencia de los aparatos ópticos usados, sin que pueda afirmar, de un modo categórico, esa presencia. También es posible que, el elemento activo existente en la fase invisible del bacilo de Koch, no sea una forma filtrable de éste, sino algún cuerpo producido por él.

Esta opinión, ha sido elaborada en virtud de los resultados obtenidos en nuestro trabajo experimental, que es el siguiente:

Hemos repetido en 40 cobayos la prueba de inyectarles los productos obtenidos por filtración de un cultivo de bacilo de Koch virulento, previo tratamiento con lámpara de cuarzo y separados diariamente, a partir de las veinticuatro horas de practicada la siembra, hasta el día o dos días antes de que el cultivo muestra todos los caracteres típicos del desarrollo completo (raspando el cultivo nos daba bacilos, ácido alcohol resistentes, morfológicamente identificables con el típico Koch). A los cobayos así preparados les inoculábamos estos mismos bacilos, siendo imposible conseguir su tuberculización, ni por vía submamaria,

Microbiología Española. — *Vol.* 1.° 1947. — *Presentado el día* 30 *de enero de* 1947.

intraperitoneal, intrapleural, ni otra alguna, ni aún por pulverizaciones en tráquea de suspensiones de gérmenes. Sin embargo, estos mismos gérmenes tuberculizaban a cobayos hermanos gemelos de los anteriores, produciéndoles manifestaciones típicas dentro de los quince a treinta días siguientes, como la infartación de los gánglios inguinales en forma típica morfológica e histológicamente. Dejando progresar la tuberculización podíamos observar en las autopsias la presencia de cavernas pulmonares o lesiones renales.

De estos 40 cobayos daremos en esta comunicación los casos más típicos e interesantes, para no alargar demasiado el escrito.

La experiencia anterior nos permite asegurar que los productos obtenidos por filtración desde las veinticuatro horas siguientes a la siembra hasta el mismo día en que se presentan las colonias típicamente definidas, previo tratamiento con lámpara de cuarzo, actúan como inmunizantes, ya que inyectándolos en cobayos no se puede tuberculizar, posteriormente a los animales, por ninguna vía.

La segunda parte de nuestra experiencia se encaminó a investigar la acción curativa de los filtrados, ya que habíamos probado la acción inmunizante. La experiencia fué la siguiente:

Sembramos bacilos de Koch exaltados y de virulencia adaptada al cobayo por pases sucesivos, recogiendo durante el desarrollo de los cultivos los productos de filtración que, previo tratamiento con lámpara de cuarzo, conservábamos en nevera.

Una vez obtenidos los cultivos inyectábamos cobayos hasta producir tuberculización típica, con infarto ganglionar y la correspondiente gráfica de temperatura y peso.

Tratando a continuación los cobayos enfermos con los productos de filtración que habíamos separado anteriormente, observamos la desaparición progresiva de las manifestaciones tuberculosas, como son la desaparición del infarto ganglionar, el cierre de chancros, la normalización de la gráfica de peso y temperatura y su total restablecimiento y curación. En la autopsia pudimos observar la cicatrización total de las pulmonares, renales y de las lesiones de las cavernas.

Esta experiencia la hemos realizado en 90 cobayos, de los que expondremos más adelante los datos de los que consideramos más típicos e interesantes.

El hecho que acabamos de relatar, lo consideramos del máximo interés, por demostrar que la acción de los filtraados *no es sólo inmunizante, sino curativa.*

En los 130 casos que fueron objeto de las experiencias que acabamos de reseñar, no tuvimos ningún fracaso, pero en otros 322 casos que hicimos a continuación, obtuvimos algunos resultados negativos, cuyo

examen detallado nos demostró que el efecto inmunizante de los filtrados no tenía lugar cuando la prueba de tuberculización subsiguiente se hacía con gérmenes distintos a los que habían servido para obtener los filtrados inmunizantes. Tampoco actuaban los filtrados con acción curativa cuando procedían de gérmenes diferentes a los que habíamos utilizado para provocar la tuberculosis en el animal de experiencia.

Podemos deducir de lo anterior, que cada una de las formas o variedades de los bacilos de Koch, conocidas hasta hoy. incluso las distintas formas microscópicas (corta, larga, granulosa, recta y curva), actúan como substancias antigénicas distintas, y son capaces de provocar tuberculosis diferentes.

Examinando lo anteriormente expuesto creemos que podemos sustentar la opinión manifestada al principio de esta comunicación, de que en los productos de filtración del cultivo del bacilo de Koch, existe alguna substancia, ya sea virus, producto de metabolismo o bacilo en fase de desarrollo, que actúa indiscutiblemente como antígeno y dá lugar a la formación de anticuerpos capaces de prevenir o curar la tuberculosis.

También hemos realizado pruebas de fijación de complemento para demostrar el carácter antigénico de los productos de filtración y la presencia de anticuerpos en el suero de la sangre de los animales experimentados.

En cuanto a la técnica empleada para el tratamiento de los animales podemos decir que se ajusta a las siguientes normas:

Aunque en un principio recurrimos a simples tindalizaciones de los productos que separábamos por filtración, por indicación de los doctores Castro y Gomis, recurrimos al tratamiento por la lámpara de cuarzo para evitar en lo posible el romper o neutralizar parte del mosaico antigénico y dar lugar a la formación de mayor cantidad de anticuerpos, asegurando una inmunidad más enérgica y duradera.

Los productos de filtración se han sometido a la acción de una lámpara de Hanau, existente en el laboratorio de la cátedra de Microbiología de esta Facultad de Farmacia, variando las distancias, no observando en ningún caso, aún con los bacilos adultos, la acción bactericida publicada por Donelly, quien asegura que no hay germen o bacteria que pueda resistir más de veinticinco segundos la acción directa de los rayos ultravioleta. Esta experiencia la hemos repetido en nuestro laboratorio particular, empleando nuestra lámpara y confirmando el mismo resultado.

Como antecedente del tratamiento del bacilo tuberculoso por la radiación ultravioleta, podemos citar los trabajos de Dreaw, quien, tratando dichos gérmenes por los rayos X durante un tiempo que varía

de treinta y seis horas a cuatro días, atenúa su virulencia; atenuación que se mantiene en los subcultivos y que se logra por la acción directa de los rayos X sobre los bacilos; efecto que se consigue igualmente con los rayos ultravioleta.

También hemos tenido presente la acción atenuante y destructora de ciertos venenos y toxinas ejercida por la lámpara de cuarzo, según los trabajos de Aimard y Dausset y de Schlipphake, trabajando este último precisamente con el bacilo de Koch, al que destruye in vitro con diferentes longitudes de onda, que no indica, sin conseguir la acción modificadora in vivo por morir el animal de experimentación.

Los medios de cultivo empleados en la experimentación han sido el caldo peptonado, de carne de vaca, con glicerina al 4-5 % y pH 7,4, y la temperatura de la estufa 38° c. Como cultivo sólido hemos utilizado el de Löwenstein.

A este último medio, que nos ha servido siempre para el aislamiento directo de los gérmenes, le hemos añadido, en algunas ocasiones, jugo de tomate y tiroxina, obteniendo resultados muy variables en cuanto al tiempo y la abundancia del desarrollo, según lo indicamos en una comunicación presentada en el año 1934 en el Instituto de Patología Médica, referente al cultivo y aislamiento de bacilos tuberculosos.

Del producto patológico, bien sean esputos, orina, etc., o de los cultivos que nos facilitaban, sembrábamos en el medio indicado y simultáneamente inyectábamos en la cara interna del muslo, en la región submamaria o inguinal de un cobayo de unos 200 a 300 grs., prefiriendo siempre cobayos hembras jóvenes, de poco peso. Una vez aparecido el cultivo, lo que tarda en suceder de diez a treinta días (en algunas ocasiones, poco frecuentes, ha tardado ocho días), resembramos en el medio líquido caldo-peptonado-glicerinado, con las precauciones necesarias para que no se sumergiese la siembra. Algunas veces hemos recurrido a colocar papeles o rodajas de corcho sumamente finas, con objeto de facilitar su cultivo en superficie y evitar que, por los movimientos a que han de someterse diariamente, se perdiesen los cultivos. Otras veces, hemos utilizado rodajas de corcho, igualmente finas, con un orificio central para poder pasar la bujía filtrante sin que tocase los velos exuberantes que se producen en algunas ocasiones, consiguiendo retirar diariamente, y a partir de las veinticuatro horas siguientes a la siembra, la cantidad de líquido filtrado necesario, sin peligro de contaminación ni de pérdida del cultivo.

Estos filtrados los conservamos en nevera, recogidos en tubos de cuarzo o en frasquitos de cuarzo, con objeto de poderlos someter a la acción de los rayos ultravioletas. A medida que fueron terminándose los recipientes de cuarzo y viendo que no se contaminaban fácilmente,

fuimos realizando los tratamientos con la lámpara, colocando los filtrados en placas de Petri de gran superficie, que destapábamos en el momento de estar todo preparado para su irradiación.

Como hemos dicho anteriormente, la irradiación se ha efectuado a distancias variables.

Después de la irradiación estaban dispuestos los filtrados para su inoculación. Esta se hacía, subcutáneamente, a cobayos sanos, empezando por un cuarto de c. c. del filtrado obtenido a las veinticuatro horas de la siembra, llegando hasta 1,5 a 2,0 c. c., que era el máximo necesario para no provocar reacción local ni térmica.

Cuando había reacción local, consistía en un ligero enrojecimiento y tumefacción en el punto de la inyección, con elevación simultánea de temperatura y duración máxima de cuarenta y ocho horas; cuando se producía este fenómeno, una vez pasado, se repetía la misma dosis antes de pasar a la fracción siguiente.

Conseguida la ausencia de reacción, tras el tratamiento con el líquido procedente del primer filtrado, seguía la inyección del filtrado obtenido a las cuarenta y ocho horas siguientes a la siembra, administrado en la misma forma y con las mismas precauciones que la primera fracción, tratando de evitar reacciones fuertes, las que se han presentado algunas veces. También se presentaban reacciones ligeras, en algunas ocasiones, al llegar a las últimas dosis; en otras, se presentaban en las primeras, y consistían en la pérdida del apetito, ligero erizamiento del pelo y elevación térmica. Del mismo modo que acabamos de relatar para las fracciones primera y segunda del filtrado, se seguían las inyecciones de todas las demás, hasta llegar a la última fracción.

Una vez terminado este tratamiento, se dejaba descansar a los animales durante una o dos semanas, en unos casos, y hasta tres o cuatro meses, en otros, omitiendo el descanso en otros animales.

Pasado el tiempo correspondiente a cualquiera de los tres casos anteriores, inyectábamos a los animales suspensiones de gérmenes procedentes del mismo cultivo que nos había servido para su aislamiento o para la preparación de los filtrados, empleando las siguientes vías: subcutánea, en la cara interna del muslo; submamaria, intraperitoneal, intrapleural, en vejiga por sondaje directo, por pulverización en tráquea o por medio de alimentos contaminados con suspensiones de gérmenes.

Al mismo tiempo que realizábamos estas inoculaciones en el cobayo que considerábamos inmunizado, preparábamos los testigos, a los que inoculábamos sin ningún tratamiento previo, y por la misma vía que empleábamos en el cobayo inmunizado.

Hemos procurado, siempre que nos ha sido posible, que los testigos fueran cobayos gemelos, para mayor exactitud.

Como más adelante se cita en algunos de los casos que presentamos con detalle, el motivo de poner dos testigos gemelos era el de utilizar uno como demostrativo del poder curativo de los filtrados empleados como inmunizantes en el cobayo experimental, y el otro, que era el verdadero testigo, para demostrar la virulencia del germen empleado. En otras ocasiones, el empleo de los dos testigos servía para dejar uno hasta su total caquexia y muerte, sacrificando al otro en el momento que considerábamos más oportuno, para poder investigar los nódulos o lesiones que presentaba en los órganos tuberculizados.

En otras experiencias, cuando no conseguíamos cobayos gemelos, empleábamos hijos del mismo padre y de madres hermanas, para lograr los máximos caracteres de consanguinidad, evitando los errores que todos hemos tenido ocasión de observar cuando se opera con cobayos de distinta procedencia, pues algunos de estos animales son muy refractarios a la tuberculización y, en caso de conseguirla, no presenta cuadros típicos de infección, lo que no tiene todavía una explicación muy clara, y se atribuye a casos aislados de inmunidad natural.

A continuación exponemos los casos que consideramos más típicos, tanto de inmunización, como de curación de proceso tuberculoso.

Caso típico de inmunización e inoculación por vía submamaria.

Cobayo núm. 14

Características:

Sexo	Hembra.
Peso inicial	257 gramos.
Peso terminal	269 gramos.

Inmunización:

Bacilo inoculado	Procedente de sedimento de orina de mujer tuberculosa.
Medio de cultivo	Löwenstein.
Desarrollo total	14 días.
Resembrado	En medio líquido ya indicado.
Desarrollo	17 días.
Productos de filtración.	15.

Tratamiento de inmunización:

3 inyecciones del.....	1.er filtrado.
2 — del.....	2.º al 10.º.
1 — del.....	11.º al 15.º.
Duración total del tratamiento.....	30 días.
Observaciones.....	Cierta reacción en las dosis que fueron caracterizadas por la elevación térmica y tristeza.—Buena tolerancia en el resto del tratamiento.—Pelo normal, buen apetito, sin diarreas y trastornos de ninguna clase.
Tiempo de descanso...	Ninguno.

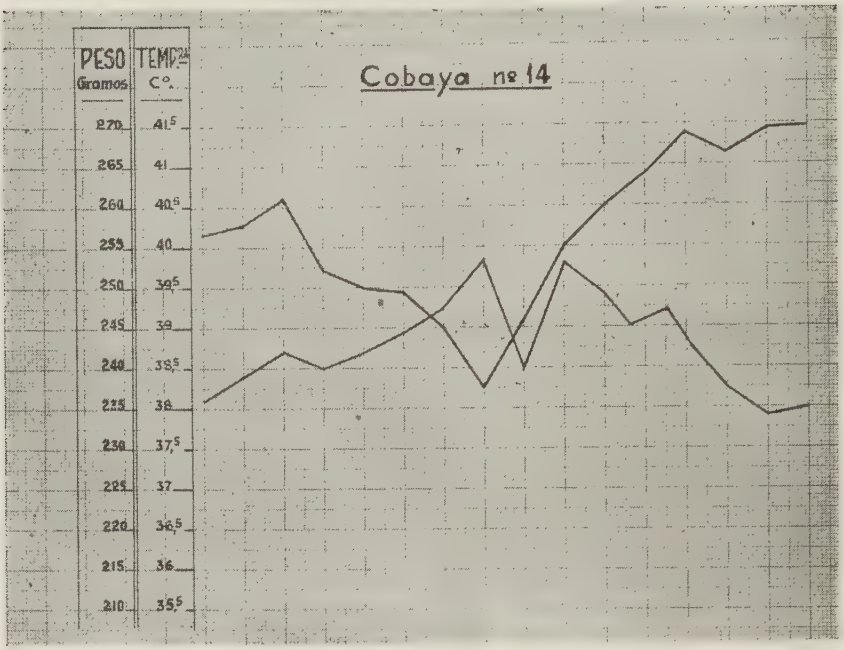
Tratamiento de inoculación:

Bacilo inoculado.....	Procedente del desarrollo en el medio de Löwenstein.
Vía de inoculación.....	Región submamaria izquierda.
Cantidad inoculada....	1 c. c. de una suspensión de un asa en 5 c. c. de solución salina.
Observaciones.....	Ligera elevación térmica desde las 24 horas de la inoculación, manteniéndose durante 4 días con descenso progresivo hasta su normalización.
Tiempo de observación.	Una vez terminado el tratamiento, 45 días, no presentando chancro ni infarto inguinal correspondiente.
Autopsia.....	Sacrificio del cobayo por no haber muerto. No se encontró ningún tubérculo ni manifestación de infección tuberculosa de ninguna clase.

Testigo del caso del cobayo núm. 14

Características:

Sexo.....	Hembra.
Peso inicial.....	200 gramos.
Peso terminal.....	205 gramos.



Agente inmunizante:

Bacilo inoculado..... Ninguno.

Tratamiento de inmunización..... Ninguno.

Tratamiento de inoculación:

Bacilo inoculado..... Procedente del desarrollo en el medio de Löwenstein.

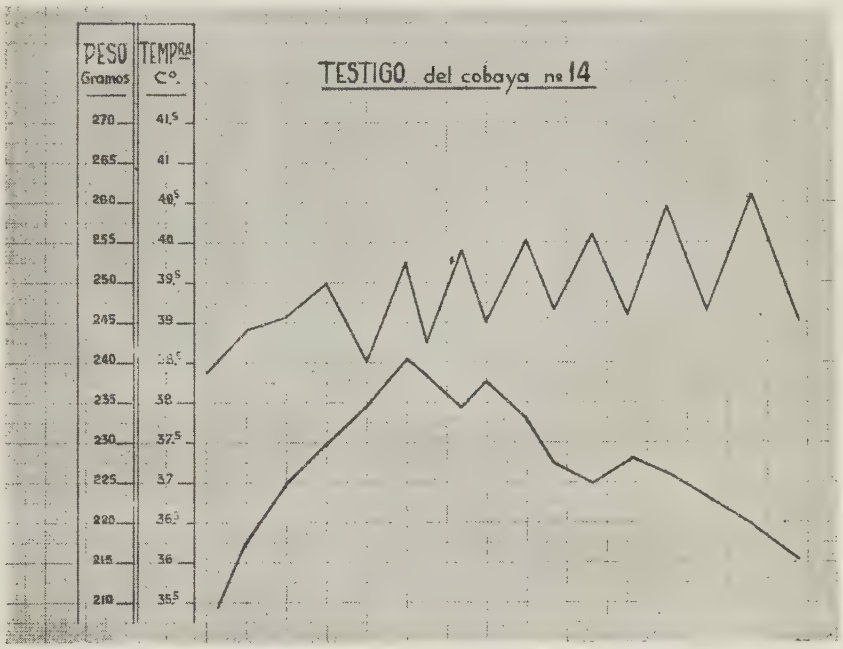
Vía de inoculación..... Región submamaria izquierda.

Cantidad inoculada.... 1 c. c. de una suspensión de un asa en 5 c. c. de solución salina.

Observaciones..... Gráfica térmica típica de infección tuberculosa.—A los 5 días apareció chancro que no volvió a cerrar.—A los 12, infarto ganglionar resbaladizo y típico.

Autopsia..... A los 45 días fué sacrificado, presentando tubérculos caseificados en el pulmón, en los que, en su observación histológica y bacteriológica, se comprobó la tuberculización sufrida.

Autopsia ..... Por siembra del ganglio inguinal infartado se desarrollaron colonias de bacilos de Koch identificables con las colonias primitivas.—En el punto de inoculación se observó todas las características típicas de chancro tuberculoso.



Caso típico de inmunización e inoculación por vía submamaria de una raza bovina aislada en un niño.—Cobayo núm. 88

Características:

Sexo..... Hembra.
Peso inicial..... 205 gramos.
Peso terminal..... 255 gramos.

Agente inmunizante:

Bacilo inoculado..... Procedente de esputos de un niño que contenía bacilos de la raza bovina.

Medio de cultivo.....	Löwenstein.
Desarrollo total.....	9 días.
Resembrado.....	En medio líquido ya indicado.
Desarrollo.....	18 días.
Productos de filtración.	16.

Tratamiento de inmunización:

1 inyección del.....	1.º, 2.º, 3.º 4.º, 5.º, 6.º, 7.º, 8.º, 9.º, 10.º.
3 inyecciones del.....	11.º, 12.º.
5 — del.....	13.º, 14.º, 15.º, 16.º.
Duración del tratamiento.....	36 días.
Observaciones.....	Presentó fuerte reacción de elevación térmica, inapetencia y erizamiento del pelo durante los últimos 20 días del tratamiento.
Tiempo de descanso...	Un mes.

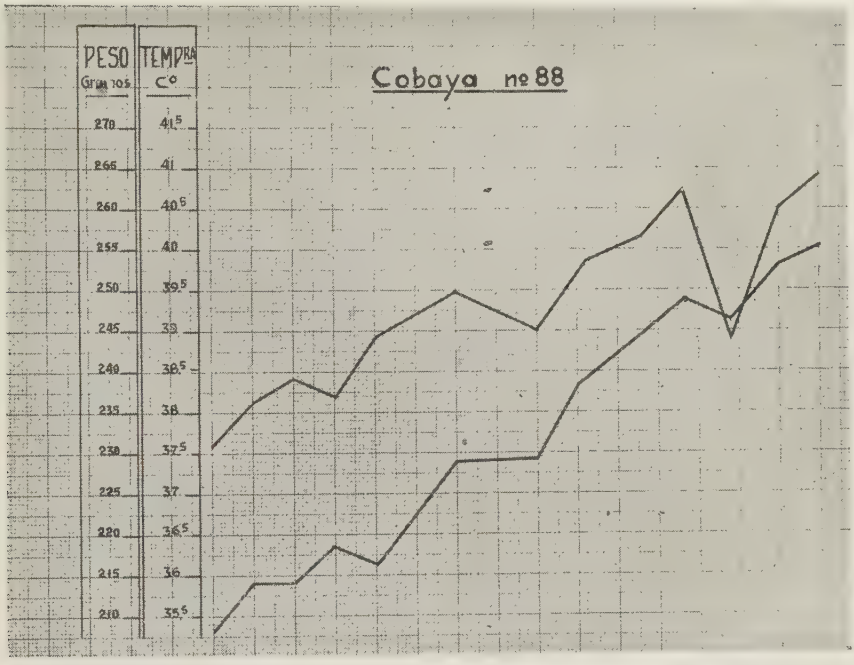
Tratamiento de inoculación:

Bacilo inoculado.....	El procedente del desarrollo en el medio de Löwenstein y el medio líquido indicado.
Vía de inoculación.....	Submamaria derecha.
Cantidad inoculada....	0,5 c. c. de una suspensión de un asa en 5 c. c. de solución salina.
Observaciones.....	Reacción térmica en los días siguientes a su inoculación.—No dando ninguna manifestación pasados los siete primeros días.—No presentó chancro ni infartación ganglionar.
Tiempo de observación.	12 días después de la inoculación.
Autopsia.....	Sacrificado el cobayo por no haber muerto, no se halló ningún tubérculo ni manifestación tuberculosa.

Testigo del caso del cobayo núm. 88

Características:

Sexo.....	Hembra.
Peso inicial.....	215 gramos.
Peso terminal.....	220 gramos.



Agente inmunizante..... Ninguno.

Tratamiento inmunización.. Ninguno.

Tratamiento de inoculación:

Bacilo inoculado..... El mismo bacilo aislado en el medio de Löwenstein.

Vía de inoculación..... Región submamaria izquierda.

Cantidad inoculada.... 1 c. c. de una suspensión de un asa en 5 c. c. de solución salina.

Observaciones..... Gráfica de peso que manifiesta su debilidad orgánica de cremiento y desarrollo. Presentando chancro e infarto ganglionar, en el que, extirpado, se identificó bacteriológica e histológicamente su carácter tuberculoso.

Autopsia..... Sacrificado a los 42 días presentó, a pesar de haber sido extirpado el gánglio, tuberculosis generalizada.

Caso típico demostrativo de que no quedan inmunizados para gérmenes de distinta procedencia.—Cobayo núm. 109

Características:

Sexo	Hembra.
Peso inicial	300 gramos.
Peso terminal	220 gramos.

Agente inmunizante:

Bacilo inoculado	Procedente de esputo de tuberculosis humana.
Medio de cultivo	Löwenstein.
Desarrollo total	11 días.
Resembrado	En el medio líquido ya citado.
Desarrollo	19 días.
Productos de filtración.	17.

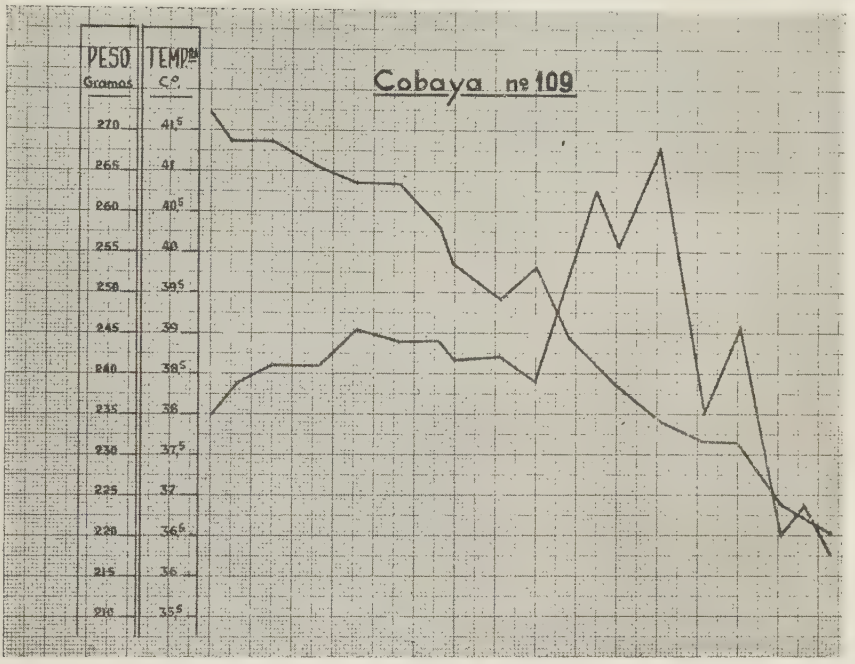
Tratamiento de inmunización:

3 inyecciones del	1.º, 2.º, 3.º, 4.º, y 5.º, filtrados.
1 inyección del	6.º, 7.º, 8.º, 9.º, 10.º, 11.º, 12.º, 13.º, 14.º, 15.º, 16.º, 17.º.
Duración del tratamiento	27 días.
Observaciones	Ligera reacción térmica en los 15 primeros días.—Buena tolerancia durante el resto del tratamiento.
Tiempo de descanso	Ninguno.

Tratamiento de inoculación:

Bacilo inoculado	Procedente del aislamiento en el caso expuesto del cobayo núm. 88, de procedencia bovina.
Vía de inoculación	Subcutánea en cara interna del muslo.
Cantidad inoculada	1 c. c. de una suspensión de un asa en 5 c. c. de solución salina.
Observaciones	Elevación térmica a partir del sexto día de la inoculación, con placa en el punto de inoculación, que terminó con producción de chancro, infarto inguinal correspondiente.

Autopsia..... Murió a los 21 días, después de terminado el tratamiento.—Presentó gran desnutrición y tuberculosis generalizada con diseminación en el pulmón y esquimosis intestinal.



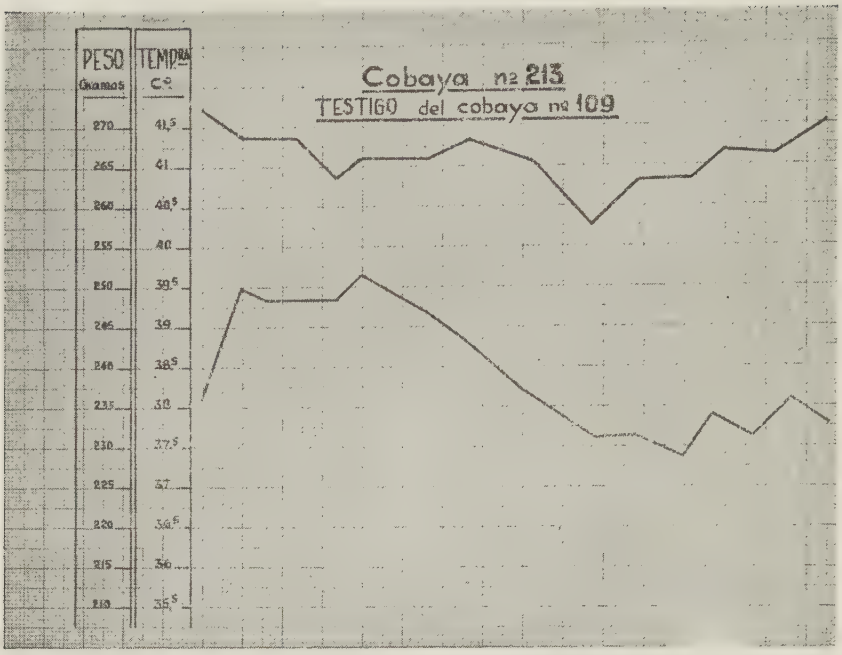
Caso demostrativo de que no se realizó en el cobayo anterior núm. 109 la inmunización por haber sido tratado con gérmenes de distinta procedencia.—Cobayo núm. 213

Características:

Sexo..... Hembra, a los 15 días después de un parto.
Peso inicial..... 330 gramos.
Peso terminal..... 335 gramos.

Agente inmunizante:

Bacilo inoculado..... Procedente del cultivo del esputo con que se trató el cobayo núm. 109.



Medio de cultivo.....	Löwenstein.
Desarrollo.....	11 días.
Resembrado.....	En el medio líquido ya mencionado.
Desarrollo.....	19 días.
Productos filtración...	17.

Tratamiento de inmunización:

2 inyecciones del.....	1.º y 2.º, filtrados.
1 inyección del.....	3.º al 17.º.
Duración del tratamiento.....	19 días.
Observaciones.....	Ligera reacción local, sin elevación térmica y buena tolerancia durante el resto del tratamiento.
Descanso.....	10 días.

Tratamiento de inoculación:

Bacilo inoculado.....	El mismo que nos sirvió para obtener los productos de filtración.
Vía de inoculación.....	Región submamaria izquierda.

Cantidad inoculada....	1 c. c. de una suspensión de un asa en 5 c. c. de solución salina.
Observaciones.....	No presentó ninguna reacción manifiesta. Ni chancro, ni infartación ganglionar.
Autopsia.....	Sacrificado el cobayo a los 30 días de finalizar el tratamiento, no se observó manifestación alguna tuberculosa.

NOTA.— El cobayo-testigo correspondiente a éste cobayo núm. 213, resultó caso típico positivo de tuberculización.

Caso típico de inmunización producida por filtrados de diferente procedencia frente a los agentes que han servido para la obtención de dichos filtrados.—Cobayo número 221

Características:

Sexo.....	Macho.
Peso inicial.....	265 gramos.
Peso terminal.....	325 gramos.

Agente inmunizante:

Bacilo inoculado.....	Uno, procedente de raza bovina, aislado de una vaca tuberculosa; y otro, de un esputo de procedencia humana.
Medio de cultivo.....	Los dos en medio de Löwenstein.
Desarrollo total.....	El primero, bovino, 10 días; el humano, 17 días.
Resembrado.....	Ambos, en el medio líquido especial indicado.
Desarrollo.....	El bovino, 9 días; el humano, 12 días.
Productos de filtración.	El bovino, 7; el humano, 10.

Tratamiento de inmunización	Se empleó la mezcla a partes iguales de los 7 primeros filtrados, continuando el tratamiento con los tres filtrados restantes de procedencia humana.
2 inyecciones del.....	1.º y 2.º filtrados.
1 — del.....	3.º, 4.º, 5.º, 6.º, 7.º, 8.º.
2 — del.....	9.º y 10.º.
Duración del tratamiento.....	14 días

Observaciones.....	Débil reacción acusada en las dosis que fueron repetidas, caracterizadas por inapetencia y tristeza, con elevación térmica.—Tolerado bien el resto del tratamiento.
Tiempo de descanso...	Ninguno.

Tratamiento de inoculación:

Bacilo inoculado.....	Una mezcla de ambos bacilos desarrollados en medio de Löwenstein y medio líquido.
Vía de inoculación.....	Subcutánea en cara interna del muslo izquierdo.
Cantidad inoculada....	1 c. c. de la suspensión de la mezcla de un asa de cada germen en 5 c. c. de solución salina.
Observaciones.....	No presentó reacción térmica, chancro, ni infarto de gánglio inguinal correspondiente.
Autopsia.....	Sacrificado el cobayo por no haber muerto a los 30 días, no se encontró ningún tubérculo ni manifestación de infección tuberculosa de ninguna clase.

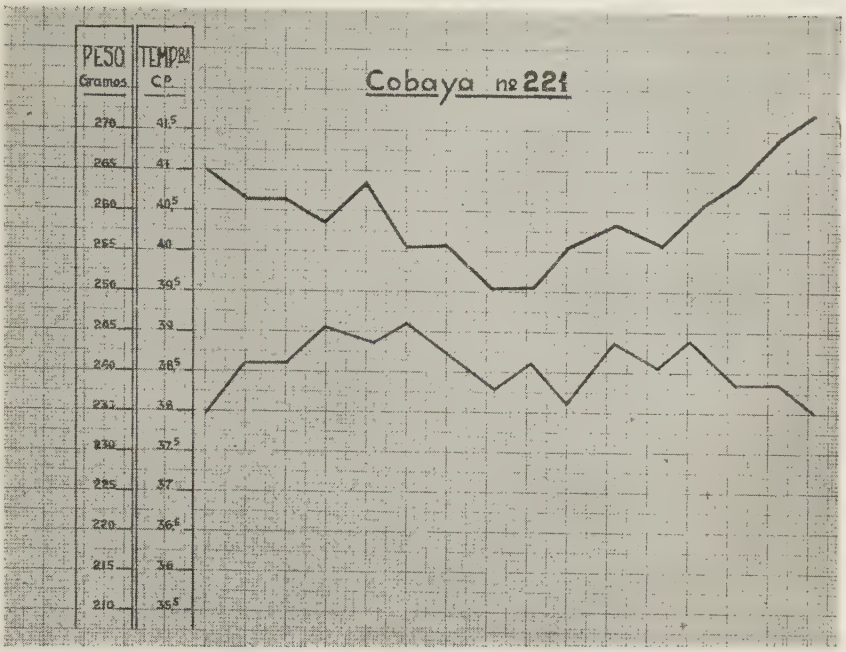
Caso del testigo del cobayo núm. 221

Características:

Sexo.....	Macho.
Peso inicial.....	300 gramos.
Peso terminal.....	270 gramos.
Agente inmunizante.....	Ninguno.
Tratamiento de inmunización	Ninguno.

Tratamiento de inoculación:

Bacilo inoculado.....	Una mezcla de ambos bacilos desarrollados, que sirvieron para preparar los filtrados inmunizantes del cobayo número 221.



Vía de inoculación..... Subcutánea en cara interna del muslo izquierdo.

Cantidad inoculada.... 0,5 c. c. de suspensión de la mezcla de un asa de cada germen en 5 c. c. de solución salina.

Observaciones..... Gráfica térmica típica de infección tuberculosa, chancro que no cerró hasta su muerte e infarto ganglionar, disnea, desnutrición.—Murió a los 29 días.

Manifestaciones típicas tuberculosas generalizadas, principalmente en órganos torácicos.

Caso típico de acción curativa de los productos de filtración obtenidos a partir del mismo germen que empleamos para su tuberculización.—Cobayo núm. 23

Características:

Sexo..... Hembra.
Peso inicial..... 250 gramos
Peso terminal..... 365 gramos.

Agente tuberculizante:

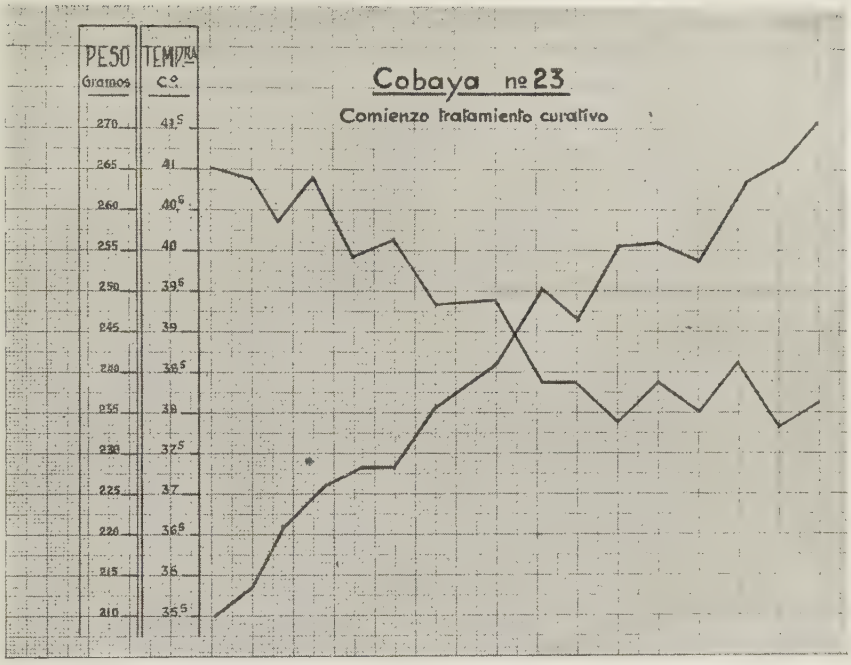
Bacilo inoculado.....	El procedente de una orina extraída sin cateterismo, en cuyo sedimento directo se observaron 16 gérmenes por campo.
Vía de inoculación.....	Inyección subcutánea en región inguinal.
Cantidad inoculada....	3 c. c. de sedimento de orina en suspensión con solución salina.
Observaciones.....	Fuerte elevación térmica, producción de chancro e infarto inguinal correspondiente.

Tratamiento curativo:

Bacilo empleado.....	El mismo que se empleó para la tuberculización.
Medio de cultivo.....	El de Löwenstein.
Desarrollo total.....	11 días.
Resembrado.....	En medio líquido ya conocido.
Desarrollo.....	19 días.
Productos de filtración.	17.

Tratamiento empleado:

4 inyecciones del.....	1.º y 2.º, filtrados.
2 — del.....	3.º.
1 — del.....	4.º al 17.º.
Duración del tratamiento.....	24 días.
Observaciones.....	Progresivamente se observó, desde la primera inyección, tendencia a la normalización de la gráfica de temperatura, normalizándose al tercer y cuarto días; como así mismo se pudo observar el cierre del chancro y la desaparición del infarto inguinal correspondiente, hasta el total y completo restablecimiento.
Autopsia.....	Sacrificado el animal a los 10 días de terminado el tratamiento, se pudo comprobar no existían gránulos, tubérculos, cavernas, ni lesiones que manifestasen la más ligera señal de haber estado tuberculizado.



Caso del testigo del cobayo núm. 23

Características:

Sexo.....	Hembra.
Peso inicial.....	250 gramos.
Peso terminal.....	220 gramos.

Agente tuberculizante:

Bacilo inoculado.....	El procedente de una orina en cuyo sedimento directo se han observado 16 elementos por campo, sin ser obtenida por cateterismo.
Vía de inoculación.....	Inyección subcutánea en región inguinal.
Cantidad inoculada....	3 c. c. de orina diluída con solución salina, previa centrifugación.
Observaciones.....	Fuerte elevación térmica, producción de chancro e infartación de ganglio inguinal correspondiente.
Tratamiento curativo.....	Ninguno.

Autopsia.....	Practicada a los 20 días, por muerte, se observó tuberculosis generalizada con todas las manifestaciones histológicas y bacteriológicas típicas de infección tuberculosa.

Caso típico de acción curativa de los productos de filtración obtenidos a partir del mismo germen empleado para su tuberculización.—Cobayo núm. 234

Características:

Sexo.....	Hembra.
Peso inicial.....	220 gramos.
Peso terminal.....	315 gramos.

Agente tuberculizante:

Bacilo inoculado.....	El procedente de un esputo, en el que se observaron, en preparaciones directas en la proporción de 35 elementos por campo.
Vía de inoculación.....	Subcutánea por ojal practicado en región inguinal izquierda.
Cantidad inoculada....	Pequeñas proporciones de esputo, depositadas con asa sobre el ojal que se hizo.
Observaciones.....	Fuerte elevación térmica, producción de chancro, infartación ganglionar correspondiente, disnea, pelo con pérdida de brillo y ligeramente erizado.

Tratamiento curativo:

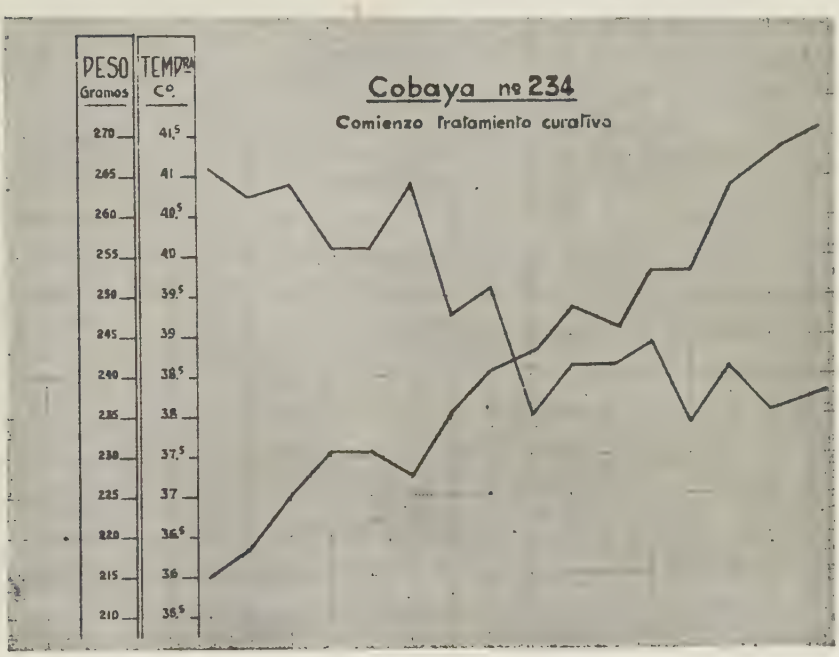
Bacilo empleado.....	El mismo de la tuberculización.
Medio de cultivo.....	El de Löwenstein.
Desarrollo total.....	11 días.
Resembrado.....	En el medio líquido ya citado.
Desarrollo.....	21 días.
Productos de filtración.	19.

Tratamiento empleado:

2 inyecciones del.....	1.º y 2.º filtrados.
2 — del.....	3.º al 19.º.
Duración tratamiento..	21 días.

Observaciones..... Progresivamente se pudo observar su mejoramiento y tendencia a la normalización de temperatura.—Aumento de apetito y brillo de pelo.—Cierre del chancro y desaparición del infarto del gánglio inguinal.

Autopsia..... No se realizó hasta finalizar el caso que a continuación expondremos.



Caso demostrativo de la acción inmunizante ejercida por el tratamiento de los productos de filtración que sirvieron como curativos a un cobayo tuberculizado previamente con los mismos gérmenes con que se obtuvieron los citados filtrados.

Cobayo núm. 234.—El mismo del caso anterior

Características:

Sexo..... Hembra.
Peso inicial..... 360 gramos.
Peso terminal..... 345 gramos.

Este cobayo, después de un descanso de un mes, se le practicó el siguiente tratamiento de tuberculización.

Se le practicaron inoculaciones por vía subcutánea con los mismos esputos que anteriormente quedan citados. Al cabo de quince días se le practicó una inoculación intrapleural, y a los cinco días se le realizaron pulverizaciones en tráquea de suspensiones de gérmenes procedentes del cultivo del caso anterior.

Observaciones.....	El cobayo no dió manifestaciones de reacción térmica, ni de ninguna clase, que indicasen visiblemente por observación directa, trastornos que pudiesen indicar infección tuberculosa.
Autopsia.....	Al mes de realizado el tratamiento indicado se sacrificó el cobayo, presentando débiles manifestaciones de haber padecido una tuberculización antigua.— No consiguiéndose aislar bacilos en ninguno de los medios en los que se sembraron los productos retirados de la autopsia (sangre, trozos de órgano de pulmón y riñón, en los que se notaban los nódulos de las lesiones producidas por la tuberculización provocada anteriormente).

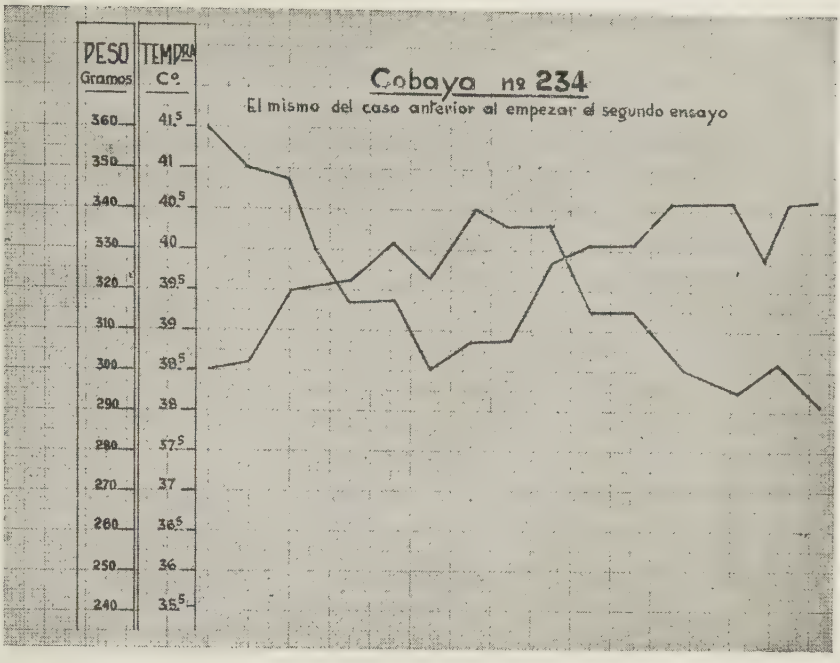
Caso testigo del cobayo núm. 234 (1.° y 2.° ensayo)

Características:

Sexo.....	Hembra.
Peso inicial.....	245 gramos.
Peso terminal.....	225 gramos.

Agente tuberculizante:

Bacilo inoculado.....	El procedente del esputo, en el que se observaron en las preparaciones directas 35 elementos por campo.
Vía de inoculación.....	Subcutánea por ojal practicado en región inguinal.



Observaciones..... Gráficas térmicas típicas de infección tuberculosa, producción de chancro, infartación de gánglio inguinal correspondiente, disnea.

Tratamiento curativo..... Ninguno.

Autopsia..... A los 35 días murió. Pudiéndose observar la infección típica de tuberculosis con lesiones manifiestas en sus diferentes órganos, principalmente en pulmón.

Caso típico que demuestra no tener acción curativa cuando son tratados con diferentes gérmenes a los que se emplearon para su tuberculización.—Cobayo núm. 307

Características:

Sexo..... Hembra.
Peso inicial..... 270 gramos.
Peso terminal..... 210 gramos.

Agente tuberculizante:

Bacilo inoculado.....	El aislado en medio de Löwenstein, procedente de un esputo tuberculoso.
Vía de inoculación.....	Subcutánea en región inguinal.
Cantidad inoculada....	1 c. c. de una suspensión de un asa en 5 c. c. de solución salina.
Observaciones.....	Gráfica de temperatura y peso, típicas de infección tuberculosa.—Infartación de gánglio inguinal correspondiente sin aparición de chancro.—Extirpado el gánglio infartado se aislaron bacilos identificables con los del tipo que se empleó para su tuberculización.

Tratamiento curativo:

Bacilo inoculado.....	Bacilo de distinta procedencia al que sirvió para su tuberculización, procedente de un medio de Löwenstein.
Medio de cultivo.....	Löwenstein.
Desarrollo total.....	20 días.
Resembrado.....	En el medio líquido ya mencionado.
Desarrollo.....	23 días.
Productos de filtración.	21.

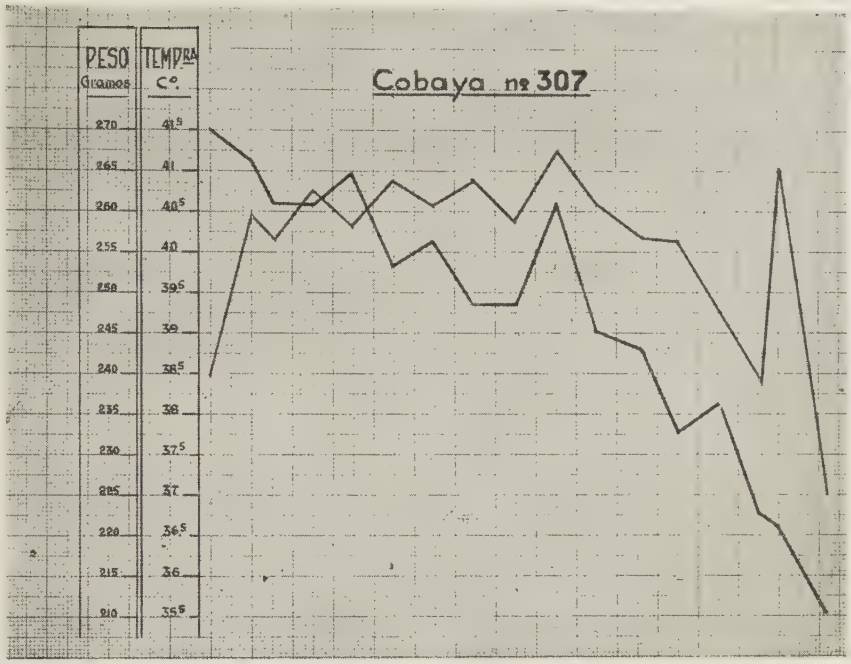
Tratamiento empleado:

4 inyecciones del.....	1.º filtrado.
3 — del.....	2.º y 3.º.
1 — del.....	4.º al 21.º.
Duración tratamiento..	27 días.
Observaciones.....	Presentó fuerte reacción de temperatura, inapetencia con erizamiento de pelo durante todo el tratamiento.
Autopsia.....	Murió a los 31 días, presentando tuberculosis generalizada.

Caso testigo del cobayo núm. 307

Características:

Sexo.....	Hembra.
Peso inicial.....	180 gramos.
Peso terminal.....	265 gramos.



Agente tuberculizante:

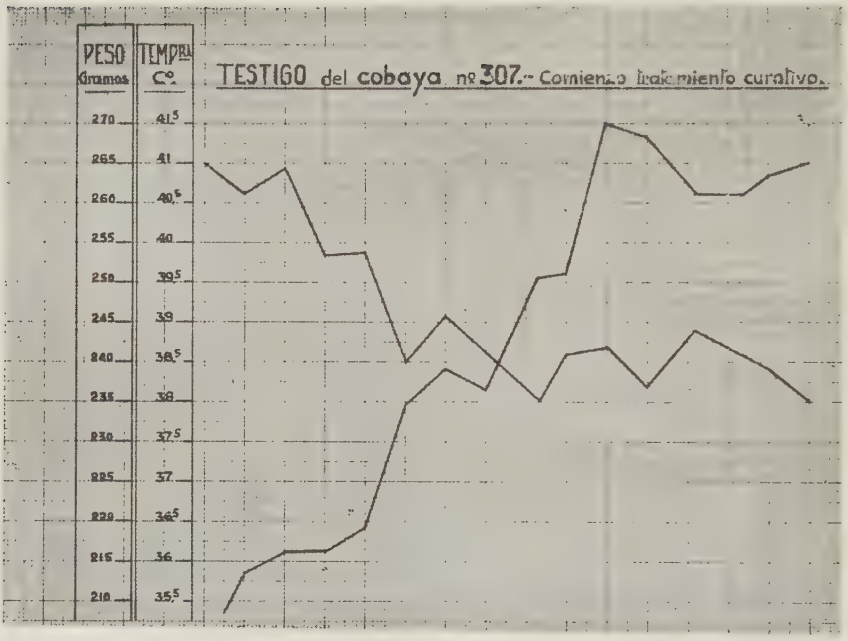
Bacilo inoculado.....	El mismo que sirvió para el cobayo número 307.
Vía de inoculación.....	Subcutánea en región inguinal.
Cantidad inoculada....	La misma que se empleó para el cobayo núm. 307.
Observaciones.....	Gráfica de temperatura y peso típicos de infección tuberculosa; presentó chancro en el punto de la inoculación con placa verde oscuro en todo su perímetro. Infartación del gánglio inguinal correspondiente.

Tratamiento curativo:

Bacilo inoculado.....	Procedente del mismo medio que sirvió para su tuberculización.
Resembrado.....	En el medio líquido ya citado.
Desarrollo.....	12 días.
Productos de filtración.	10.

Tratamiento empleado:

2 inyecciones del.....	1.º, 2.º y 3.º filtrados.
1 — del.....	4.º al 10.º.
Observaciones.....	Presentó progresivamente mejoramiento hasta llegar a la normalización de temperatura y peso.—Cayéndose la costra formada al cerrarse por completo el chancro, sin dejar más que una aureola del tamaño de 5 cts. sin pelo, desapareciendo el infarto ganglionar correspondiente.



Autopsia.....	Sacrificado el animal a los 90 días, no se encontraron más que ligeros indicios de lesiones, totalmente cerradas, de haber padecido una infección tuberculosa. No consiguiéndose aislar, mediante cultivos, bacilos de tipo tuberculoso.

Nos encontramos, pues, ante el hecho de que un filtrado del cultivo del bacilo de Koch en medio líquido, irradiado con luz ultravioleta, ocasiona un producto que tiene una potencia vacunante determinada.

Acaso pueda explicarse este hecho teniendo en cuenta las ideas emitidas por M. Nahn respecto a la ciclogenia del bacilo tuberculoso: en una fase de su desarrollo pasa por una forma filtrable, que es la que puede existir en los filtrados de los medios líquidos que nosotros manejamos.

Por otro lado, Olivier y Bonnet-Maury, observan que la radiación de radón sobre los bacilos tuberculosos, en su forma adulta, impide su germinación posterior aunque conservan cierta capacidad vital. De modo semejante podría, acaso, explicarse, lo que ocurre en los filtrados que nosotros manejamos, admitiendo que sobre las formas filtrables del bacilo actúan los rayos ultravioletas, impidiendo su desarrollo ulterior y conservando su estructura antigénica y el poder inmunizante consiguiente.

De lo expuesto en esta comunicación podemos deducir las siguientes

CONCLUSIONES

1.ª Después de pasadas veinticuatro horas desde la siembra de un bacilo tuberculoso, existe en los productos que se separan del medio por filtración una substancia que puede ser una forma filtrable o un producto de metabolismo.

2.ª Esta substancia actúa como antígeno, dando lugar a la formación de los anticuerpos correspondientes.

3.ª Esta substancia es específica para cada variedad o raza e incluso fase de desarrollo del bacilo tuberculoso.

4.º Los anticuerpos que se engendran en el organismo son capaces de conferir inmunidad en alto grado contra el bacilo tuberculoso.

5.ª La substancia que se separa por filtración tiene propiedades curativas en los animales de experimentación.

6.ª Existe un aumento progresivo del poder antigénico directamente proporcional al tiempo transcurrido desde el principio del desarrollo del bacilo tuberculoso.

7.ª El tratamiento por rayos ultravioleta actúa sobre los filtrados conservando su poder antigénico y destruyendo su toxicidad o su poder de multiplicación.

Tenemos la esperanza de que, tras un continuo y amplio estudio, podremos llevar estos conocimientos a la terapéutica humana, contribuyendo a la desaparición del terrible azote que para la humanidad constituye hoy la tuberculosis.

SUMMARY

In the researches that we have been making during fourteen years about the anti-tuberculotic experimental vaccinetherapy we have established the following technics:

The germ is isolated from the pathological products (sputums, urine) in the Löwenstein medium. These germes are sown in a glycerite peptonic bouillon (keeping the culture on the surface by means of cork disks with a central hole for the passing of the filter bougie) 24 hours after the sowing, 20 c. c. are filtered and exposed to the action of ultraviolets rays, repeating the filtration and exposal to the rays every 24 hours, till two days before the appearance of the normal culture.

These products, in 0'1 to 1'5 — 2'0 c. c. dose, are injected every seven day hypodermically, into young guinea-pigs, weighing about 200 grs., repeating the same dose as long as a local reaction is caused, characterized by loss of appetite, setting on end of the hair and rise of temperature.

After all filtrates have been injected, tracheal pulverization and food contaminated with the same germs that appeared at the end of the liquid culture, are inoculated to the same guinea pig, by subcutaneous intraperitoneal way, not having obtained the tuberculation.

The pathological power of this germ is proved by tuberculosing guinea-pigs that have not undergone a previous treatment. Some of these guinea-pigs are killed to verify the anatomic pathological lesions that show the tuberculation; the others are treated with the same filtrates and the same technics of those immunizised, the tuberculous symptomes are seen to disappear completely and the total cure can be made evident by the animal's autopsy.

The immunity does not take place if the germs that provoke the animal's sickness are different from those employed to obtain the filtrates. There is not a complete cure if the germs that produce the filtrates are different from those that cause the sickness.

From all these facts the following conclusions can be deduced:

1. *After the first 24 hours of the sowing of the bacilius, there is a substance, in the products separated from the medium by filtration, that can be a filtrable form or a metabolism product.*

2. *This substance works as an antigen, and the forming of the correspondent antibodies take place.*

3. *This substance is specifical for every kind of germs and every stage in the evolution of the tuberculosis bacillum.*

4. *The antibodies that the organism generates are able to confer a high degree of immunity against the bacillum.*

5. *The substance separated by filtration has curative qualities on the test animal.*

6. *There is a progressive increase of the antigenical power in direct proportión with the time elapsed since the beginning of the development of the bacillum.*

7. *The ultraviolets rays treatment works on the filtrates keeping all its antigenical power and destroying its toxicity or its power of multiplication.*

We hope taht studying assiduously we shall be able to apply some day all these experiences to the human therapeutics and to contribute to eliminate the dreadful calamity that tuberculosis is for mankind.

BIBLIOGRAFIA

ALLWEISSS, P.—*Zeits. Hyg. u. Infek.*, CXXI (1940), 122-383.
ARLOING, F. y DUFOURT, A.—*C. R. Soc. Biol.*, XCIII (1925), 165.
ARLOING, F., DUFOURT, A y MADARTRE.—*C. R. Soc. Biol.*, IV (1926), 46.
ARIMA, R.—*Die Ausrottung der Tuberkulose A. O. Impfumg.—Mycop*, III (1941), 105.
ARIMA, R., AOYAMAR y OHNAWA, W.—*Eigenart Bedeuntung und Dauer der A. O. in Fallen von Lungentuberkulos.—Beit. Tube*, XCVII (1942), 293.
ARMAND DELILLE MAYER, A., SCHOEFFER, G. y TERROINE, E.—*C. R. Soc. Biol.*, LXXXVI (1922), 388.
BALL, E. G.—*I Biol. Chemis.* CVI (1934), 515.
BANG, O., JUNDELL, I. y MAGNUSSON, H.—*Ann. Inst. Pasteur*, XLVII (1931), 386.
BARREL, A., DE COULAN, A., BOER, L. y QUIMANN, D.—*C. R. Soc. Biol.*, LXXXVI (1922), 388.
BEAVEN, P. W. y BAINE JONES, E.—*J. Infect. Dis.*, XLIX (1931), 399.
BEZANCON, F. y GRIFFON, V.—*C. R. Soc. Biol.*, LV (1903), 603.
BESREDKA, A. y SUPILLE, F.—*Ann. Ins. Pasteur*, XXVII (1913), 1.009.
BESREDKA, A. y SUPILLE, F.—*Ann. Inst. Pasteur*, XXXV (1921), 291.
BERNARD, L. y NELIS.—*Pres. Medical*, XXXV (1927), 721.
BLACKLOK, J. W. S. y GRIFFIN, M. A.—*Jour Path. Bact.*, XL (1935), 489.
BRUYNOGHE, R. y ADANT, M.—*C. R. Soc. Biol.*, CXI (1933), 1.051.
CALMETTE, A., MASSOL, L. y BERTAN, M.—*C. R. Soc. Biol.*, LXVII (1905), 580.
CALMETTE, A. y GUERIN, C.—*Ann. Inst. Pasteur*, XX (1906), 353.
CALMETTE, A. y GUERIN, C.—*Ann. Inst. Pasteur*, XX (1906), 609.
CALMETTE, A., GUERIN, C. y NEGRE, L.—*Ann. Inst. Pasteur*, XXXVIII (1924), 371.
CALMETTE, A., GUERIN, C. y NEGRE, L.—*Ann. Inst. Pasteur*, LX (1926), 68.

CALMETTE, A., VALTIS, J. y LACOMME, M.—*C. R. Acad. Sciences*, CLXXXIII (1926), 835.
CALMETTE, A., VALTIS, J., NEGRE, L. y BOQUET, A.—*C. R. Acad. Sciences*, CLXXXI, (1931), 491.
CASTRO Y PASCUAL, F.—*Discurso Real Academia Medicina* (1923)
CHOUCROUN, N—*C. R. Acad. Sciences*, (1940), 511.
CLARK, L. T., EMMETT, A. D. y BRID, O.—*Ann. Rev. Tuberc.*, XXX (1934), 471.
CLAUSEN, S. W.—*Rev. Phisiol.*, XIV (1934), 309.
COPODDI, A.—*Zent. f. Bakt.*, XX (1896), 800.
CUMMINS, S. L. y WILLIANS, E. M.—*Tubercle., Lond.*, XV (1933), 49.
DAMERON, S. L.—*Am. Rev. Tubek.*, XLI (1940), 512.
DENIS, J.—*La action curative du Bouillon filtré du bacille de la Tuberculose humaine* (1906).
DIETRICH, W.—*Deusche. Med. Wochenschr.*, XLVII (1921), 406.
DOUGLAS, R. y HARTLEY, P.—*Tubercle., Lond.* (1934), 1.697.
DOWNIE, A. W. y MEISZNER, G.—*Zent. f Bakt*, CXXX (1934), 465.
DREAW, W.—*Am. Rev. Tuberk.*, XLI (1940), 507.
DREYER, G. y VOLLUM, R. L.—*The Lancet.*, I (1931), 9.
FETHKE, N.—*Substances lipoidiques du bacille tuberculeux* (1938).
FIELDING, J. W.—*Aust. J. ex. Biol.*, XII (1934), 1
GRIFFITH, A. S. y MENTON, J.—*Brit. Med. J.*, I (1936), 524.
GRIFFITH, A. S. y MUNRO, W.—*The Lancet.*, I (1933), 399.
GERARD, C. y VAUDREMER, A.—*C. R. Soc. Biol.*, LXXXVII (1922), 1.102.
HALLAUER, C.—*Schw. Med. Woch.*, (1941), 1.370.
HARWEY, W. F.—*Ind. Jour. Med. Bes.*, IX (1921), 364.
JUVERISTCH, W.—*Zent. f. Bakt.*, XLVII (1908), 664.
KENDALL, A J, WALKER, A W. y DAY, A. A.—*Jour inf Dis.*, XV (1914), 455
KLEINE, F. K.—*Deust. Med. Wochr.*, LVI (1930), 130.
KENDALL, A. I., WALKER, A. W. y DAY, A. A.—*Jour. inf. Dis.*, XV (1914), 417.
KENDALL, A. I., WALKER, A. W. y DAY, A. A.—*Jour. inf. Dis.*, XV (1914), 423.
KENDALL, A. I., WALKER, A. W. y DAY, A. A.—*Jour. inf. Dis.*, XV (1914), 429.
KENDALL, A. L., WALKER, A. W. y DAY, A. A.—*Jour. inf. Dis.*, XV (1914), 433.
KOCH, R.—*Berl. Klin. Wochr.*, XIX (1882), 221.
KOCH, R.—*Deutsch. Med. Wochr.*, XVI (1890), 1.029.
KOCH. R.—*Deutsch. Med. Wochr.*, XVII (1891), 101.
KOCH, R.—*Deutsch. Med. Wochr.*, XXV (1897), 209.
KOCH, R.—*Deutsch. Med. Wochr.*, XXVII (1901), 829.
KOCH, R.—*Microparasites in Disease*; *Nw. Sydenhan S. Lond.* (1886).
LA PORTE, B.—*C. R. Soc. Biol.*, CXXXI (1939), 420.
LA PORTE, B.—*C. R. Soc. Biol.*, CXXXV (1941), 167.
LA PORTE, B.—*C. R. Soc. Biol.*, CCXII (1941), 138.
LOCKEMA , G.—*Zentr. f. Bakt.*, LXXXI (1919), 420.
LOEWUE STEIN, E.—*Zentr f Bakt.*, LXVIII (1913), 591.
LUBINSKI, W.—*Zentr. f. Bakt.*, XVIII (1895), 125.
MANU STEFENESCU JONESCU.—*Presse Medicale*; Dic. 1931.
MAYER, E. y DWORSKI, M.—*Amer. Rev. Tuberc.*, XXVI (1932), 105.
MIERE, H.—*Ztschr. f. Hyg.*, LXII (1908), 131.
MUCH, H.—*Beitr. Klin. Tuberk.*, VIII (1907), 85.
NEDEIKOVITCH, J. *Rev. Tuber.*, V (1940), 1.170.
NOCARDY ROUX.—*Ann. Ins. Pasteur.*, I (1887), 19.
OLIVIER, H. R. y BONET-MAURY.—*Press. Medicale* (1940), 217.
OPIE.—E. L.—*Jour. exp. Med.*, XXV (1917), 855.
OPIE, E. L.—*Jour. exp. Med.*, XXVI (1927), 263.
OPIE, E. L.—*Americ. Rev. Tuberc.*, X (1924), 249.
OPIE, E. L.—*Americ. Rev. Tuberc.*, X (1924), 265.
OPIE, E. L.—*Americ. Rev. Tuberc.*, XXXII (1935), 617.
OPIE, E. L.—*Amerc. Rev. Tuberc.*, XX (1929), 141.
OPIE, E. L.—*Jour. Amer. Med. Ass.*, XCVI (1930), 1.151.
OPIE, E. L.—*Widespread Tuberculose Infection of Healthy individuals and its Significance*; Filadelf. (1925).
OPIE, E. L.—*Harvey Lectures* (1929).
PARK, W. H. y KRAMVIEDE, H.—*Jour. Med. Res.*, XXIII (1910), 205.
PIENNER, M.—*Proc. Soc. exp. Biol. N-Y.*, XXX (1923), 214.
PROSKANER, B. y BECK, M.—*Ztschr. f. Hyg.*, XVIII (1894), 128.

REED, G. B. Y RICE, R.—*Cour. Bactery*, XVII (1929), 407.
REED, G. R. Y RICE R.—*Canad. J. Res.*, IV (1929), 389.
REED, G. B. Y RICE, R.—*Canad. J. Res.*, V (1931), 111.
REESER, H.—*Zentr. f. Bakt.*, XLVI (19(8), 149.
RHINES, C.—*Amer. Rev. Tuberc.*, XXXI (1935), 493.
SABIN, F. R.—*Physiol. Rev.* XII (1932), 141.
SABIN, F. R., DOAN, G. Y KORKNER, C —*J. exp. Med.*, LII (193( ), sup. 3.
SABIN, F. R., MILLER, E., DOAN, C. Y WISWAN, B.—*J. exp Med.*, LIII (1911), 51.
SAENZ, A., LE MEE, J. M. Y COSTIL, L.—*C. R. Soc. Biol.*, CXIII (1933), 564.
SEDYEN, A. Y SEDIBER, G.—*C. R. Soc Biol.*, XCVII (1927), 57.
SHIGA K.—*Zentr. f. Bakt.*, CXIV (1929), 511.
SMITH, K.—*J. exp. Med.*, III (1898), 451.
SORDELLI, A. Y ARENA A.—*C. R. Soc. Biol.*, CXVII (1934), 63.
STRENG, K.—*Sur les glucides dans les filtrats du cultures de bacilles tuberculeux· C. R. S. Biol.*, CXXXII (1939), 202.
TIFFENEAU, M. Y MARIE, A.—*C. R. Soc .Biol.*, LXXII (1912), 48.
TOMASCZEWSKI, E.—*Ztschr. f. Hyg.*, XXXI (1889), 246.
UGA, T.—*Jap. J. exp. Med.*, XIII (1935), 167.
URGOITI, G.—*Ciclogenia del bacilo tuberculoso. Act. Cong. Sand.* 1934.
URGOITI, A. Y BEATO, F.—*Rev. Sand. Hig. Publ.*, IX (1934), 111.
VEBER, T.—*C. R. Soc. Biol.*, XCIV (1926), 8.
WELLS, H. G. Y LONG, E. R.—*The Chemistry of Tuberculosis. Bailliere, Tindall & Cox.* Lond. 1932.
WESELLY, W. E. Y BEITRAGE.—*Klin. d. Tuberculose.* (1931), 76.
WHERRY, W. B.—*Jour. f. Dis.* XIII (1913), 144.
WHERRY, W. B. Y ERVEN, D. M.—*Jour. f. Dis.*, XXXI (1918), 194.
WICKOFF, R. Y SMITHBURN, C.—*Jour. f. Dis.*, LIII (1933), 201.
WILSON, G S.—*Jour. Path. Bact.*, XXVIII (1925), 69.
WILSON, G. S.—*Jour. Hig. Camb.*, XXX (193( ), 40.
ZORZOLI, G.—*Ann. Ins. Carlo Forlanini.* IV (194( ), 221.
W. F. DREA.—*The growth of Human Tubercle bacilli H37, in synthetic medium with and without agar.—J. of Bacteriology.* Vol. XXXIX. N.° 2 feb. 1940.
W. F. DREA.—*Growth of small numbers of Tubercle bacilli H37, in Long's Liquid synthetic medium and some interfering factors.—J. of Bact.* Vol. XLIV. N.° 2 august 1942, 149.
W. F. DREA.—*Antibacterial effects of various organic substances upon the H37, strain of Human tubercle bacilli in a simplesynthetic medium.—J. of Bact.* Vol. XLVIII. N.° 5, nov. 1944, 547.
W. F. DREA.—*Depth growth of acid-fast bacilli in liquid media. I. Technique.—The American Review of Tuberculosis.* Vol. LIII. N.° 4 april 1946, 353.
— II. *Study of various technical and theoretical aspects.—The American Review of Tuberculosis.* Vol. LIII. N.° 4 april 1946, 363.
W. F. DREA.—*Growth inhibition of strain H37 of the Human tubercle bacillus by* 4-M-*alkylresocinols in the depth of a liquid, synthetic, nonprotein culture medium.—J. of Bact.* Vol. 51. N.° 4 april 1946.
RENE J. DUBOS AND BERNARD D. DAVIS.—*Factors affecting the growth of tubercle bacilli in liquid media.—The Journal of Experimental Medicine.* May, I, 1946. Volumen LXXXIII. N.° 5, 409-423.

UNA CEPA ESPAÑOLA DEL MYC. LEPRAE

(HANSEN) LEHMANN ET NEUMANN

P. Juan Puiggrós, S. I.

I. Patogeneidad experimental de las cepas del Myc. leprae

El descubridor del Myc. leprae, Hansen (40), verificada la primera condición de Henle-Koch para la determinación de la etiología de la lepra, de que en los productos de la enfermedad se encuentre presente el bacilo, intentó verificar la segunda de aislarle *in vitro*, y aunque obtuvo colonias puras, no logró poderlas resembrar. Quedó, pues, sin cumplir la tercera y definitiva de reproducir con el cultivo puro la enfermedad. No lo intentó Bordoni-Uffreducci (12) que, en 1887, publicó haber cultivado y resembrado el Myc. leprae; ni Gianturco (35), que dos años más tarde confirmaba los resultados del anterior. Rake (62), en 1886, intenta probar la patogeneidad experimental hanseniana inoculando productos virulentos tomados de los enfermos, sin conseguir la reproducción de la enfermedad en los animales del laboratorio. No es, pues, raro que Boinet (11), quien en 1890 inocula el primero sus cultivos a los animales, fracasara en la reproducción de la enfermedad. Tampoco se encontraron patógenos los cultivos de Campana (13), 1891-1893; Levy (49), Sticker, Diodonné, Teich (91), Czaplewsky (24), 1897; ni los de Spronck (89), Peyri (60), 1901; Van Houtum (94), 1902; Kitin y Karlinsky (42), 1903; Rost (69 a 72), Deyke (25-26), Reschad (76), Weil (100), 1905; Williams (103 a 106), 1910; Twort (93), Serra (77 a 78); 1911; ni los de Liston y Williams (50), Reenstjerna (64 a 65), 1912; Currie (21 a 23), Donald, Moses (56), Biehler, Elyberg, 1915; Bory, Schrroetter (76) y Schlossmann (73 a 75), 1923. No nos informan de la patogeneidad de sus cultivos Keil E. y Unna P. (47), Walker (99), 1928; Shiga (79 a 81) y Souza-Araujo (83 a 85), 1929. Tampoco lo hacen Wherry (101 a 102), 1930; ni Koulescha (48), 1928; Petschkowsky y Malinina (61),

Microbiología Española.—Vol. 1.° 1947. *Presentado el día* 8 *de Julio de* 1946.

1932; que crêen haber resuelto el problema del cultivo del Myc. leprae; Harazawa y Watanabe (100), Schneider, 1931, y Rodríguez de Alburquerque (68), 1935. Adant (1), ni siquiera esplenectomizando monos cercophithecus y cinocephalus, encuentra patógenos suscultivos en 1932. Tampoco es optimista Such (90), ni Bergmann, Sitanala y Sardjito (9), Mc. Kinley y Verder (54), 1933; Federico Solana y Gutiérrez Solana (39), 1935.

En cambio no faltan quienes creen haber llenado ya la tercera condición de Henle, la definitiva, para demostrar que sus cultivos son el auténtico bacilo de Hansen. Barranikow (2) en 1899 inocula sus cultivos en la cámara anterior del ojo del cobayo y produce una lesión que cree típica y denomina «Pannus leprossus». Kedrovsky (43-44), con sus cultivos consigue, en 1901, en el conejo lesiones semejantes a las tuberculosas, y, en el ratón, tubérculos bacilíferos. Zenoni (109) en 1905 produce inflamaciones focales en el cobayo inoculando sus cultivos, y en la rata blanca la muerte en dos o tres días. Cleeg (19-20) en 1909 consigue inoculaciones en serie en el cobayo, y Duval (27-34), inoculando sus cultivos al ratón japonés, observa una infección generalizada exactamente igual que la producida inyectando productos leprosos. El mismo año, Kedrowsky (44), consigue en el ratón lesiones muy semejantes a las típicas leprosas humanas; y Carrasquilla (18) informa en el Congreso de Río de Janeiro que sus cultivos, inoculados al conejo, le causan una infección aguda con síntomas y lesiones leprosas, que lo llevan rápidamente a la muerte. Beyon (3-7), en 1911, inyecta sus cultivos bajo la túnica del testículo de ratas y encuentra luego lesiones que no se diferencian de las leprosas; y Mc. Neals inyectando los suyos a *Macacus rhesus* encuentra lesiones iguales a las leprosas. Idénticas lesiones producen en el cobayo los cultivos de Williams (50-103-106) y Beauchamp (8).

En la II Conferencia internacional de la lepra de Estrasburgo, Reenstjerna (66) afirma categóricamente que la lepra experimental es posible en los monos, en el conejo, en el cobayo y en el ratón; Kedrowsky (46) ratifica que sus cultivos reproducen ésta. También son patógenos para los animales los cultivos de Harada en 1929, y los de Ota y Sato (57-59) en 1931. Mc. Kinley y Soule en 1933 (52-53) producen nódulos lepromatosos con sus cultivos en *Macacus rhesus* y *Cebus olivaceus* en 10 de los 17 animales inyectados. En 1935, Vaudremer y Brun (98), dan cuenta de que sus cultivos producen enfermedad rápida, que causan la muerte en ratas blancas y en monos *Cinocephalus*. En uno que vive tres meses aparecen síntomas de lepra neural. Souza-Araujo (86-88), en 1944, afirma que sus cultivos con patógenos para las ratas blancas.

Lo primero que ocurre preguntar, después de ésto, es ¿por qué no se aceptan estas experiencias como suficientes para llenar la tercera

condición de Henle? En primer lugar, hay que confesar que casi todas ellas presentan en algo el carácter de caso aislado, por haberse logrado en pocos experimentos y cada investigador con un cultivo distinto, y con procedimientos distintos o con síntomas y resultados algo diferentes. Pero no hay que olvidar que se trata de una enfermedad que, a pesar de ser específica del hombre, apenas se ha logrado propagar experimentalmente de hombre a hombre, pudiendo decir Tisseuil (44) en 1939 que esta experimentación «aún no había dado resultados convincentes», y por ello intenta hacerlo, al menos, de leproso a leproso por medio de injertos heteroplásticos, para dar»al bacilo de Hansen las mejores condiciones de infección; y de tres casos, es ya discordante si esto pasa en el hombre con material leproso en las condiciones ideales, ¿se puede razonablemente exigir que los cultivos reproduzcan con regularidad en los animales el cuadro típico humano? Esto esta en perfecta consonancia con la escasa contagiosidad de la lepra, que requiere de ley ordinaria convivencia prolongada e íntima para propagarse. Siendo esto así ¿no se podrá suplir por otras pruebas la tercera condición de Henle? Con la claridad irrefragable de ésta, no; pero, con seguridad suficiente para poder distinguir un cultivo de Hansen del de otros gérmenes afines de los que podría tratarse, creo que sí.

Acerca de la patogeneidad experimental, después de haber estudiado los datos arriba citados y observado durante meses, más de 50 ratas blancas, *Mus rattus*, más de 20 ratones, *Mus musculus*, y algunos cabayos y conejos, inyectados, parte con mis cultivos, parte con el material leproso que me ha servido para las siembras, estoy persuadido de que este problema tiene solución, y que se puede reproducir en los animales, al menos en la rata blanca, *Mus rattus*, el cuadro de la lepra humana; pero, es cosa de larga incubación, de años, el llegar al cuadro típico.

II. Descripción de la cepa y de los medios en que se cultiva

Cuanto al medio de cultivo, la idea que me guió en mis trabajos fué la siguiente: que el *Myc. leprae* es pobre en fermentos metabólicos o catalíticos vitales que le permitan utilizar los medios de cultivo corrientes. Esta idea la he visto luego confirmada por otros autores, en especial por Grau Triana (37) en 1944. Este autor cree que el Hansen tiene incompleto el aparato Metabólico Citocrómico de Warburg-Keilin. Que dispone de suficiente citocromo *a*, *b* y *c*, acceptores de H, pero que es pobre de Citocromo acceptor de O. Así prepara él sus medios añadiendo oxidasa o sulfato ferroso que suplan esa falta. Yo tomé otro camino. Intenté suplir esta falta por medio de las vitaminas, especialmente la B y la C, y con abundancia de iones minerales. Como substan-

cias nutritivas aptas para el cultivo reputé, desde luego, las especiales para el cultivo del bacilo de Koch, singularmente el huevo, la asparagina y la leche, tomando la precaución de esterilizarlas por tindalización a menos de 80 grados, y usé también el huevo al natural, después de comprobar su esterilidad.

Usando, pues, los medios Löwenstein, verde y rojo, Petragnani a la asparagina, Petrof, Dorset y agar-huevo, añadiendo unas gotas de caldo Souton y de vitaminas antes de la siembra, y sembrando triturados de lepromas en evolución activa, he conseguido varias cepas. Una de ellas, la que voy a describir, se obtuvo en la siembra hecha el 19 de mayo de 1943 en medio Löwenstein rojo, adicionado de Souton y vitamina C, y es resembrable en los medios dichos indefinidamente.

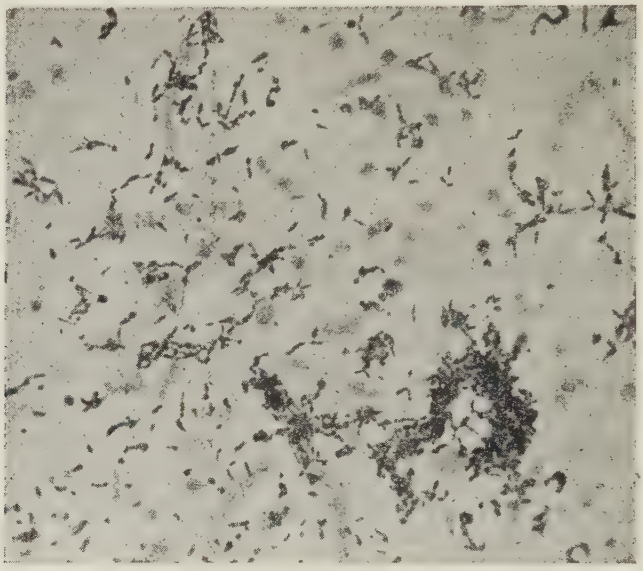


Fig. 1. Microfotografía hecha con Obj. Inmers. A. 90 y ocular microfotográfico Leitz-Leica. Vense formas bacilares y granulares apelotonadas y algunas sueltas. Frotis teñido por Ziehl-Neelsen.

El leproma joven, no ulcerado, material de siembra, procede de la región de la nuca de un caso L 3 en evolución muy activa. Fué enucleado con toda precaución, desinfectando la piel con alcohol y yodo, recogido y triturado estérilmente. Parte del triturado, que resultó muy rico en gérmenes, tanto aislados como en globis, se sembró inmediatamente en una serie de los medios dichos, y parte fué homogeneizado con ácido sulfúrico al 15 por 100, y después de lavado con solución salina estéril, sembrado al día siguiente en otra serie de los mismos medios.

Morfología.—La cepa tiene forma bacilar del tipo de los bacilos que se encuentran en los tejidos leprosos. Sus dimensiones oscilan entre 0,4 hasta 0,8 de grueso por 1 hasta 4 micras de largo. En los cultivos plenamente desarrollados alcanzan con frecuencia estas dimensiones: a veces se junta el mínimo de longitud con el máximo de grosor dando bacilos anchos y cortos, sobre todo en las cadenas, bastante frecuentes. Los extremos son redondeados. En los frotis se observa la agrupación típica en masas, en paquetes, en manojos de cadenas, en empalizada, en cadenas, en V y también aislados. (Figs. 1 y 3.)

Tienen cápsula bien formada.

Forman gránulos del tipo de los de Much.

Bacilos y gránulos son resistentes al alcohol y a los ácidos, y así son positivos al Gram y al Ziehl. (Figs. 1, 3 y 5.)

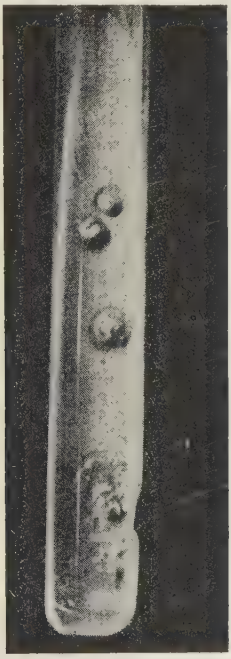


Fig. 2. Fotografía de un cultivo original inicial a los tres años de crecimiento. Las pequeñas erosiones en la cúpula de las dos colonias superiores se deben a resiembras de las mismas.

Poseen intenso movimiento browniano, pero son inmóviles.

En los medios dichos aparecen las colonias puntiformes a los doce-quince días. Estas, una vez crecidas, son redondas, levantadas, lisas, brillantes, de consistencia mantecosa, confluentes y de color amarillo.

En el tubo original, figura 2, a los tres años de crecimiento tienen de 8 a 10 mm. de diámetro, dos de ellas en forma de cápsula lisa y una con el centro arrugado; las tres tienen, además, un halo de cerca de 2 mm.

de crecimiento plano del mismo color y brillo. Junto al agua de condensación aparecen colonias menos levantadas, que se fusionan formando una grande lobada que se extiende y pronto se arruga en el centro. El color amarillo en los centros arrugados tiene una zona central amarillo naranja. En numerosas resiembras aparecen colonias semejantes a las anteriores, sólo la pigmentación amarilla se hace más intensa, llegando casi a amarillo naranja. Frotis de estas colonias primitivas, al aparecer, muestran bacilos fuertemente ácido-alcohol-resistentes (aar) capsulados, entre una masa de otros bacilos mucho más pequeños, menos aar,

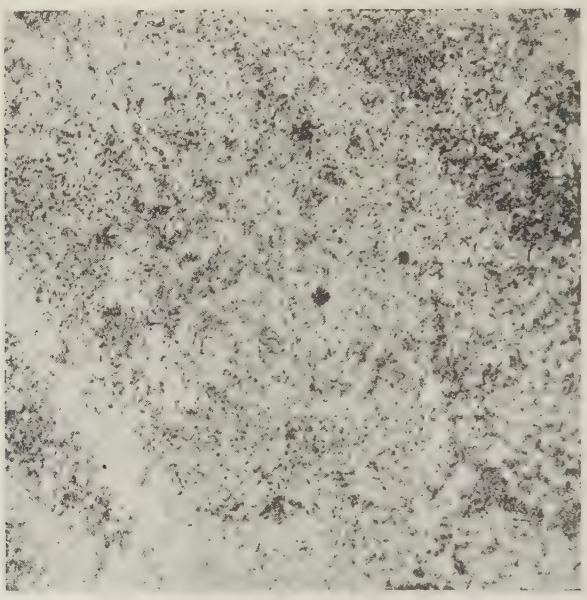


Fig. 3. Microfotografía sacada como la de la Fig. 1. Vense abundantes bacilos. De un frotis teñido por Ziehl Neelsen.

de modo que al extremar la diferenciación pasan a granate violeta, violeta y aún a azul en la tinción de Ziehl-Neelsen. En frotis posteriores la misma cepa original y las resiembras aparecen formadas por bacilos totalmente aar.

En las colonias que tienen ya varios meses aparecen bacilos acromatófilos convertidos en cadenitas de gránulos aar del tipo de los de Much (fig. 5). La pleomorfia de esta cepa es escasa: hallándose en los cultivos puros, donde ésta aparece siempre, pocas formas atípicas, si no es en la magnitud. (Fig. 6.)

Metabolismo.—Es de desarrollo muy lento: véanse los cultivos de tres años, de dos, de uno y de medio, exactamente de treinta y seis,

veintitres, diez y cinco meses (figs. 2 y 4). En cambio, se forman colonias grandes y céspedes por confluencia de las colonias pequeñas, de aspecto exuberante. No se acelera por adición de lactosa, sacarosa, dextrosa, glicerina o cistina; sí se acelera por adición de substancia nerviosa. No crece en medios corrientes, ni en los medios para el bacilo tuberculoso no vitaminados. La temperatura óptima oscila entre 36 y 38 grados centígrados; crece todavía a temperatura ambiente.

El pH óptimo es de 6,5 a 7,5, pero crece a pH 5 y aun más bajos.

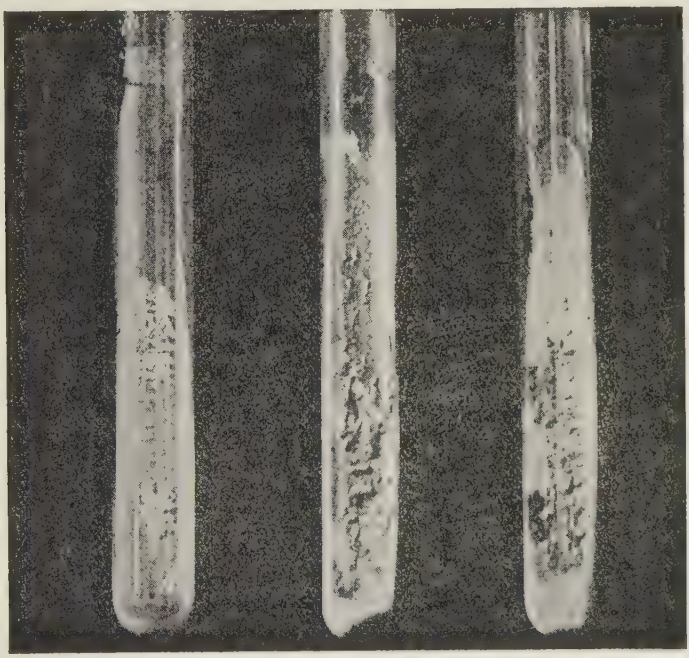


Fig. 4. Tres subcultivos: *a* de 23 meses en Petrof 4.ª resiembra; *b* de 10 meses en Löwenstein rojo 10.ª resiembra; y *c* de 5 meses en agar-huevo 19.ª resiembra.

Patogenia.—Es patógeno, de más a menos, para la rata blanca, *Mus rattus*, y para el ratón, *M. Musculus*, para el cobayo y para el conejo.

De cuatro ratones inyectados el 4 de octubre del 1944 con esta cepa, el primero, inyectado con 0,2 c. c. de emulsión de 1.000 millones de gérmenes por c. c. en solución fisiológica por vía intracerebral, después del choc inicial, se repone y aparece casi normal durante dos días consecutivos; al cuarto día después de la inoculación aparece muerto. En la autopsia hay huellas de toxicosis general, el bazo está hinchado; y en el bazo, en la vejiga de la orina, en el peritoneo, en el moco nasal, en el líquido lacrimal,

bacilo de los Grifos, estudiado por los doctores C. Xalabarder y R. Cullell en los Dispensarios Blancos de Barcelona, porque éste crece fácilmente en los medios ordinarios para el bacilo de Koch y en agar corriente.

Con los *Mycobacterium tuberculosis* humano y bovino y el *Mycobacterium avium* es inconfundible por su patogenia y también por no ser cultivable en los medios apropiados para éstos.

En segundo lugar, a más de no poderse confundir con ninguno de los ácido-alcohol-resistentes conocidos:

A) Por su origen de lepromas extirpados asépticamente, triturados estérilmente e incluso homogeneizados con ácido sulfúrico al 15 por 100 durante media hora.

B) Por su ácido-álcohol-resistencia típica e idéntica a la del *Mycobacterium leprae*, algo inferior a la del *Mycobacterium tuberculosis*, que hace que, al apurar la diferenciación, tome un color rojo granate, mientras el tuberculoso se conserva rojo rubí.

C) Por su crecimiento típicamente lento, tan en consonancia con todos los datos ciertos que tenemos sobre la biología del Hansen; y

D) Por su patogeneidad para la rata blanca, distinta de la lepra autónoma de las ratas causada por el Stefansky, y para los ratones, creo que hay razón suficiente para no poder dudar de que se trata de una cepa del Mycobacterium leprae (Hansen) Lehmann et Neumann.

Comparación de esta cepa con las publicadas hasta ahora.—Desde luego, se distingue de todas aquéllas que no son patógenas para los animales, citadas más arriba. De las patógenas, se distingue por su ácido-alcohol-resistencia constante que sólo presenta los altibajos observados por muchos autores en el *Mycobacterium tuberculosis*; en esto se parece a la cepa «Needham» del Instituto Lister de Londres, que Grillo (39) encuentra aar 100 por 100, y a las de Duval y Cleeg II que se acercan a este porcentaje. Es cromógena, como las de Kedrowsky, Barry, Navarro Duval, Cleeg, Brinkerhoff I, Currie «18», Lleras y las seis de Souza-Araujo 1944. Es eumórfica y no difteroide, por lo que se distingue de las de Bordoni-Uffreducci, Babes, Gienturco, E. Levy, Spronck, Czaplewsky, Teich, Kedrowsky, Kitin y F. Levy; y es aerobia, por lo que se distingue de las de Ducrey, Campana, Serra. Se distingue de todas ellas por su metabolismo o requisitos de cultivo; pues, según Grillo, la mayoría de estas cepas son, por su metabolismo, indiferenciables de las ácido-alcohol-resistentes, Samrotitswy las seis de Souza-Araujo cultivan en medio Löwenstein. Se diferencia de las cultivos de Vandremer y Brun, por no tener las fases evolutivas que él observa en todas sus cepas dentro de los mismos medios. La polimorfia del *Mycobacterium leprae* parece que es muy grande. Esto afirman

investigadores de primera línea que han trabajado año tras año en el mismo problema, como Kedrowsky, Reenstjerna, y, últimamente, a más de Vaudremer y Brun (96-98), Grau Triana, Castro Palomino y Conde Mateo (37-38). Esta polmorfia es también propia del tuberculoso, según los investigadores de su biología. La resiembra de esta cepa en otros medios muy distintos acusa también poliformia. Esta será estudiada en otro trabajo.

RESUMEN

En este trabajo se resumen, primero, los resultados de la patogeneidad experimental de las cepas de Myc. leprae conocidas. Luego, se describe una nueva cepa cultivada en los medios Löwenstein rojo, Löwenstein verde, Dorset, Petrof, agar-huevo y Petragnani a la asparagina, añadiendo a ellos, antes de la siembra, unas gotas de Souton y de Vitamina B. y C. Tiene forma bacilar del tipo de Myc. leprae, forma gránulos como los de Much, es capsulada, inmóvil, totalmente resistente a los ácidos, álcalis y al alcohol. Da colonias amarillas, brillantes, confluentes; crece muy lentamente; no crece en los medios corrientes.

Es patógena para la rata blanca, el ratón, el cobayo y el conejo. Se distingue de los micobacterios tuberculosos, de los patógenos para animales de sangre fría y de los saprofitos, por su patogeneidad propia y por su metabolismo.

SUMMARY

In this work is summarized, first, the resultances of the experimental pathogenicity of the straius of Myc. leprae known. Next, is described a new strain cultivated in the following media: red Löwenstein, green Löwenstein, Dorset, Petrof, Agar egg and Petragnani, asparagine, adding to it, before the sowing a drop of Sauton and of vitamin B and C. It has the bacillary shape of the Myc. leprae type. It makes up granules as those of Much, it is capsulated, immobile, quite resistent to acids, alkalis and alcohol. It gives yellow colonies, brights, confluents; grows very slowly, and does not grow in ordinary media.

It is pathogenic to the white rat, mouse, Guinea-pig, and rabbit. It is differenced from the tuberculous mycobacteria, from the pathogenics for cold blood animals, and from the saprophyts, by its proper pathogenicity and by its metabolism.

Fig. 5. Microfotografía hecha como las anteriores. Bacilos acromatófilos con gránulos Ziehl y Gram positivos. De frotis teñido con Ziehl-Neelsen.

en el cerebro y en el riñón se encuentran abundantes bacilos aar. En la impromta de riñón aparece una gran masa de gérmenes aar, con restos celulares. El segundo y el tercero murieron a los dieciocho-veinte días, y, por ausencia, no pude hacer la autopsia. El cuarto, inyectado como el anterior con 0,2 c. c. de emulsión de 1.000 millones por c. c. de la misma cepa, pero por vía intratesticular, tarda cuarenta y ocho horas en reponerse del choc de inoculación; durante cinco días aparece casi normal, y al octavo día enferma y muere. En la autopsia llama la atención, con la hinchazón del bazo, una extraordinaria congestión renal. En ambos testículos y epidídimos, en el riñón, en la orina, en el moco nasal y en el líquido lacrimal se encuentran bacilos aar. del mismo tipo.

Hechos semejantes he observado repetidas veces en ratas blancas. Experiencias más completas tengo en curso; pero, como noté arriba, la reproducción del cuadro típico histológico y clínico de la lepra es cosa de años en los animales. Y no es de extrañar, pues, que en el hombre de ordinario pase lo mismo.

III. Discusión y comparación de cepas

Discusión.—¿Se trata aquí de una cepa del Myc. leprae? Para mí la respuesta debe ser afirmativa por las razones siguientes:

En primer lugar, es indudable por la morfología del germen, que

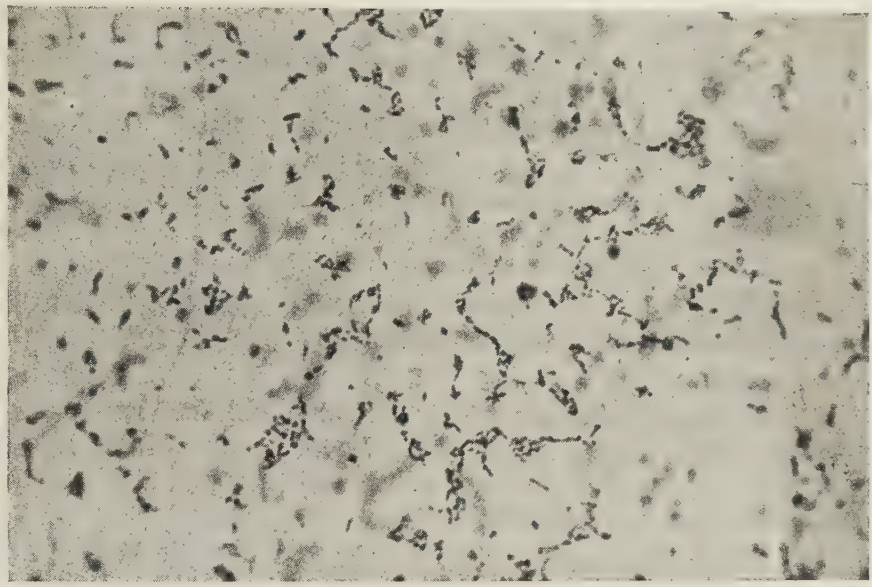


Fig. 6. Microfotografía hecha como las anteriores. En ella se ven algunas formas pleomórficas. De frotis teñido por Ziehl-Neelsen.

pertenece al género *Mycobacterium*, si a ella se añade su típica ácido-alcohol-resistencia. Es también indudable que no pertenece al grupo de los saprofitos, entre los cuales se cuentan el bacilo del smegma, el de la manteca, el del heno o de *Timoty*, el *muris*, el *lacticola* y la especie miscelánica *Mycobacterim species*, en la que se acostumbra a clasificar a la mayoría de las cepas, que los autores arriba citados han presentado como cultivos de Hansen no patógenos para los animales.

A) Porque, como acabo de notar, es ciertamente patógeno para ratas blancas y ratones.

B) Porque no crece en los medios corrientes, dato característico de clasificación para las especies saprofitas.

C) Porque es de crecimiento típicamente muy lento, cosa no observada en los saprofitos, siendo este dato también característico de clasificación.

Por las mismas tres razones, consta que no es ninguno de los patógenos para animales de sangre fría; los cuales, no lo son para animales de sangre caliente, crecen bien y rápidamente en los medios corrientes, al menos en los empleados para el cultivo del bacilo de Koch.

Tampoco se puede confundir con el *Mycobacterium para tuberculosis*, o sea el bacilo de Johne, porque éste no puede cultivarse en medio alguno sin añadir o bacilos ácido-resistentes muertos o extracto de los mismos, cosa no requerida por nuestra cepa. Tampoco puede ser el

BIBLIOGRAFIA

(1) ADANT.—*Ann. Soc. Belg. Med. Trop.*, XII (1932), 411.
(2) BARRANNIKOW.—*Zbl. f. Bakt.*, XXVI (1899), 113 y XXVII (1900), 709
(3) BATEN, H.—*J. Lond. School. Trop. Med.*, I (1911).
(4) BAYON, H.—*Brit. Med. J.* (1912), 1. 191.
(5) BAYON, H.—*Trans. Soc. Trop. Med. Hyg.*, V (1912), 158.
(6) BAYON, H.—*Lancet.*, II (1912), 456.
(7) BAYON, H.—*Ann. Trop. Med. a. Parasit.*, IX (1915), 535.
(8) BEAUCHAMP, W.—*Ind. Med. Gaz.* (1911).
(9) BERGMANN, SITANALA y SARDJITO.—*Med. Dient. Volksg. Nederl. Ind.* (1933).
(10) BIEHLER y ELIASBERG.—*Lepra*, IX (1910).
(11) BEINET.—*Rev. Med.*, X (1890), 609.
(12) BORDONI-UFFREDUZZI.—*Zbl. f. Bakt.*, XI (1887), 300.
(13) CAMPANA, R.—*Riforn. Med.* (1889 y 1891), 159.
(14) CAMPANA, R.—*II Intern. Dermt. Kongr. Wien.* (1893).
(15) CAMPANA, R.—*Zbl. f. Bakt.*, XVI (1894), 374.
(16) CAMPANA, R.—*Z it. f. Hyg.*, LXXVI (1910), 361.
(17) CARRASQUILLA.—*Zbt. f. Bakt.*, XXVI (1899), 375.
(18) CARRASQUILLA.—*Conf. Cient. Lab. Amer.* Río Janeiro (1905).
(19) CLEEGG, M. T.—*Philip. J. Sci.*, IV (1909), 77 y 403.
(20) CLEEGG, M. T.—*Publ. Healt. B ll.* LXXV (1916).
(21) CURRIE, D. H., BREINKERHOFF y HOLLMANN.—*Publ. Healt. Rep.*, XXXIV (1910).
(22) CURRIE, D. H., CLEEGG, M. T. y HOLLMANN.—*Publ. Healt. Rep.*, XLVII (1911).
(23) CURRIE, D. H. y CLEEGG, M. T.—*Publ. Healt. Rep.*, L (1911).
(24) CZAPLEWSKY.—*Zbl. f. Bakt.*, XXIII (1898), 236.
(25) DEYKE.—*Inter. Dermat. Kongr. Wien.* (1904).
(26) DEYQUE y RESCHAD.—*Deutsch. Med. Wooh.*, XIII (1905).
(27) DUVAL, CH. W.—*J. Exp. Med.*, XII (1910), 649.
(28) DUVAL, CH. W.—*J. Exp. Med.*, XIII (1911), 374.
(29) DUVAL, CH. W.—*J. Exp. Med.*, XIV (1912), 181.
(30) DUVAL, CH W. y WELLMAN, C.—*J. Amer. Med. Asoc.*, LVIII (1912), 1.427.
(31) DUVAL, CH. W. y WILLIAMS, H.—*J. Med. Res.*, XXVII (1913), 165.
(32) DUVAL, CH. W. y WELLMA, C.—*J. Inf. Dis.*, XI (1921), 1.
(33) DUVAL, CH. W. y WILLIAMS, H.—*J. Inf. Dis.* (1925).
(34) DUVAL HOLTZ.—*Proc. soc. Exp. Biol. a. Med.*, XXXI (1934), 453.
(35) GIANTURCO.—*Zbl. f. Bakt.*, VI (1889), 702.
(36) GIANTUCO.—*Giorn. Assoc Neap Med. e Nat.* (1890), 403.
(37) GRAU TRIANA, J.—*Rev. Lepr. Derm. y Sif.*, I (1944), 230.
(38) GRAU TRIANA, CASTRO PALOMINO y CONDE MATEO.—*Rev. Lepr. Derm. Sif.*, I (1944), 236.
(39) GRILLO, J.—*Med. Pais. Cal.*, VII (1934), 305.
(40) HAMSEN, A.—*Wirch. Arch.*, XC (1882), 542.
(41) JOHNSTON, J.—*Philip. J. Sc.*, IX (1914), 227.
(42) KARLIMSKY.—*Verh. VIII Kongr. Deutsch. Derm. Gess. Sarajevo* (1903).
(43) KEDROWSKY, W. J.—*Zeit. Hyg. u. Infektk.*, XXXVII (1901), 52.
(44) KEDROWSKY, W. J.—*Zeit. Hyg. u. Infektk.*, CXVI (1910), 1.
(45) KEDROWSKY, W. J.—*J. Trop. Med.*, XXXI (1928).
(46) KEDROWSKY, W. J.—*III Confr. Inter. Lepr. Strassbourg*, CXXIV (1923).
(47) KEIHL, E. y UNNA, P.—*Derm. Woch.*, LXXXVII (1928), 1.663.
(48) KOULESCHA, G. S.—*Rus. J. Trop. Med.*, VI (1928), 194.
(49) LEVY, E.—*Arch. f. Hyg.*, XXX (1897)
(50) LISTON, W. C. y WILLIAMS, J. S. B.—*Sci. Med. Dep. Gov. Ind.* (1912).
(51) MC. COY, G. W.—*Publ. Healt. Bull.*, XXVII (1914).
(52) MC. KINLEY, C. B. y SUELE, M. H.—*J. Amer. Asoc.*, XCVIII (1932), 361.
(53) MC. KINLEY, C. B. y SUELE, M. H.—*Amer. L. Trop. Med.*, XII (1932), 441.
(54) MC. KINLEY, C. B. y VERDER, E.—*Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, XXXI (1933), 659
(55) MARTINEZ SANTAMARIA.—*J. Trop. Med. a. Hyg.*, XVI (1913), 31.
(56) MOSES.—*Rev. Med. S. Paulo.*, XIII (1920).
(57) OTA, M. y SATO, J.—*C. R. Soc. Biol.* (1931), 107, 108.

(58) OTA, M. y SATO, J.—*C. R. Soc. Biol.* (1932), 109, 111.
(59) OTA, M. y SATO J.—*Inter. J. Lepr.*, II (1935), 175.
(60) PEYRI ROCAMORA, J.—*Tésis doctoral* (1901).
(61) PESCHKOWSKY, C. W. y MALININ, L. M.—*Zbl. f. Bakt.*, CXXVI (1932), 136.
(62) RAKE.—*Br. Med. J.* (1888).
(63) RAÑE.—*New York Med. Rec.*, XLIV (1893), 705.
(64) REENSTJERNA, J.—*Deut. Med. Eoch.*, I (1912).
(65) REENSTJERNA, J.—*Arch. Derm. u. Sif.*, XCVI (1913).
(66) REENSTJERNA, J.—*III Conf. Inter. Lepr. Strassbourg.*, CXXXII (1933).
(67) REENSTJERNA, J.—*Ann. Inst. Past.*, XL (1926), 78.
(68) RODRIGUEZ DE ALBURQUERQUE, A. F.—*C. R. Soc. Biol.*, XCVIII (1935), 713.
(69) ROSTK, E.—*Ind. J. Med. Res.*, XXXIX (1905).
(70) ROSTK, E.—*Ind. J. Med. Res.*, XLVI (1911).
(71) ROSTK, E.—*Lepr.*, XII (1912), 3.
(72) ROSTK, E.—*Med. Press.*, CXLVII (1913).
(73) SECHLOSSMANN, K.—*Zeit. f. Imm.*, XLII (1929), 447.
(74) SCHLOSSMANN, K.—*Zbl. f. Bakt.*, CXV (1930), 474.
(75) SECHLOSSMANN, K.—*Zbl. f. Bakt.*, CXXVII (1933), 369.
(76) SCHROETTER, H.—*III Conf. Inter. Lepr. Strassbourg.*, CXX (1923).
(77) SERRA, A.—*Con. IX Reun. Soc. It. Derm. Sif.* (1909).
(78) SERRA,A.—*Lepra*, XIII (1913), 237.
(79) SHIGA, K.—*J. Med. Asoc.*, XIX (1929).
(80) SHIGA, K.—*Jap. Med. World.*, IX (1929), 213.
(81) SHIGA, K.—*Zbl. f. Bakt.*, CXIV (1929), 511.
(82) SOLANA, F. y GUTIERREZ SOLANA.—*Med. Pais. Cal.*, VIII (1935), 177, 233 y 271
(83) SOUZA-ARAUJO, H. C.—*Mem. Inst. Osw. Cruz. Supl.* (1928).
(84) SOUZA-ARAUJO, H. C.—*C. R. Soc. Biol.*, XCI (1932), 331.
(85) SOUZA-ARAUJO, H. C.—*Bras. Med.*, XLVII (1933), 131.
(86) SOUZA-ARAUJO, H. C.—*Inter. J. Bepr.*, IX (1941), 20.
(87) SOUZA-ARAUJO, H. C.—*Mem. Inst. Osw. Cruz.* (1941), 379.
(88) SOUZA-ARAUJO, H. C.—*Mem. Inst. Osw. Cruz.*, IX (1944).
(89) SPRONCK.—*Zbl. f. Bakt.*, XXV (1899), 257.
(90) SUCH, M.—*Com. Perm. Inv. San.* (1933).
(91) TEICH.—*Zbl. f. Bakt.*, XXV (1899), 756.
(92) TISSEUIL, J.—*Bull. Soc. Path. Exot.*, XXXII (1939), 382, y *Inter. J. Lepr.*, IX (1941), 87.
(93) TWORT, F. W.—*Proc. R. Soc. Biol.*, LXXXIII (1910), 156.
(94) VAN HOUTUM, G.—*Neder. Tijdch. Gen.* (1903), 158.
(95) VAUDREMER, A., SEZARY, A. y BRUN.—*C. R. Soc. Biol.*, CVI (1931), 1.225.
(96) VAUDREMER, A., SEZARY, A. y BRUN.—*C. R. Soc. Biol.*, CIX .1932), 624.
(97) VAUDREMER, A. y BRUN.—*Pres. Med.*, XCII (1935), 1.812.
(98) WALKER, E. L.—*J. Prev. Med.* III (1929).
(99) WATANABE, Y. y HARAZAWA, J.—*Kit. Arch. Exp. Med.*, X (1933), 87.
(100) WEIL, E.—*Ann. Inst. Past.*, XIX (1905), 793.
(101) WHERRY, W. B.—*J. Inf. Dis.*, XLVI (1930), 263.
(102) WHERRY, W. B.—*Philip. J. Sci.*, XLIII (1930), 577.
(103) WILLIAMS, J. S. B.—*Lepra*, XI (1910), 246.
(105) WILLIAMS, J. S. B.—*Sci. Mem. Med. San. Dep.*, XV (1911).
(106) WILLIAMS, J S. B.—*Lepra.*, XII (1912), 3.
(107) WOHLBACH y HONEIJ.—*J. Med. Res.*, XXIX (1914), 367.
(108) WOHLBACH y HONEIJ.—*J. Med. Res.*, XXX (1914), 1.
(109) ZENONI, C.—*Giern. It. Mal. Ven. e Pell.*, XXII (1904).

LA SEXUALIDAD EN UNA RAZA ESPAÑOLA DE SPHACELOTECA SORGHI (Link.) Clint.

Manuel J. de Urríes

Sphacelotheca Sorghi (Lk.) Clint. ha sido muy estudiado, especialmente en los Estados Unidos (1). Por eso me pareció interesante probar el comportamiento sexual de una raza española de esta especie.

A) **Técnica seguida**

Descartado el sistema de inoculaciones, por la dificultad de llevarlas a cabo con los medios de que disponía en el laboratorio, me decidí por el examen del comportamiento «in vitro» y bajo control microscópico.

Unos primeros ensayos me hicieron ver la dificultad de obtener las copulaciones de esporidios de un modo regular. Eso mismo ocurrió con esta especie a algún otro investigador (Isenbeck, 1935), quien, por eso, estudió el problema siguiendo el método indirecto de las inoculaciones. Otros, en cambio (Rodenhiser, 1934), lograron fácilmente copulaciones de ese modo.

Estas primeras pruebas las realicé poniendo a germinar en masa un grupo numeroso de clamidosporas, y esperando unas veces a que tuviera lugar la copulación de los esporidios en el mismo medio, y otras trasladando suspensiones de esporidios así obtenidos, a diversos medios, como agua de malta a diversas concentraciones, agar-patata y también,

(1) Del trabajo de Melchers, Ficke y Johnston (1932) se deduce que, solo en la Kansas Agricultural Exp. Station, en 1930 llevaban ya 14 años de trabajos sobre este tema. Véase, además, Rodenhiser y Barnes (1933) así como Tyler y Shumway (1935).

Microbiología Española.—Vol. 1.° 1947. *Presentado el día* 3 *de Marzo de* 1947.

en vista de los resultados obtenidos por Bauch con *U. violacea* Fuck. (1922) y *U. bromivora* Fidch. de Waldh., y los de Schleumer con *U. Zeae* (Bckm.) Ung. (1931), utilicé agua alcalinizada en diversos grados. También ensayé la decocción de zanahoria, utilizada por Rodenhiser (loc. cit.) cuando trabajó con la misma *Sph. Sorghi.*

Los ensayos resultaron, en general, fallidos, y sólo tuve éxito, aunque en muy pequeña proporción, con algunas suspensiones de esporidios trasladados a tubos de agar-patata.

Con la intensificación del estudio del comportamiento sexual en los Ustilaginales, son ya relativamente numerosos los casos conocidos de raza que, dentro de una misma especie, presentan mayor o menor resistencia a la copulación.

Comencé este trabajo utilizando indistintamente esporas procedentes de ovarios de *Sorghum Halepense* P. y de *S. vulgare* P. de varias localidades. Más tarde operé únicamente con esporas procedentes de *S. vulgare* de Estada (Huesca).

La raza de Estada me parece próxima a la que Ficke y Johnston (1930) distinguen como forma fisiológica núm. II, de las tres que diferencian por sus características en cultivo artificial. Coincide con ella en el crecimiento rápido sobre agar-patata. Como en ella, también tienen las colonias color crema claro cuando son jóvenes, que se convierte en pardo oscuro con la edad; de modo que la región parda central aparece rodeada de una zona clara periférica. Mis colonias, en cambio, no son reticuladas cuando viejas, contra lo que indican los citados autores para su forma II. Según estos mismos autores, la raza II es rara en América del Norte, donde es frecuentísima la núm. I.

La resistencia a la copulación esporídica, que a pesar de los muchos ensayos no pude atenuar, dificultaba el estudio operando con líneas monosporídicas aisladas por los procedimientos de dilución o extensión en placa, y resultaba más practicable el trabajar con líneas cuya procedencia, a partir de las distintas células de un mismo promicelio, fuera conocida. De este modo bastarían algunas combinaciones positivas para llegar a conclusiones que, de otro modo, hubieran requerido gran cantidad de ellas.

No disponiendo en el Jardín Botánico de micromanipulador alguno, tuve que dedicar mis primeros esfuerzos a tratar de idear algún dispositivo utilizable a este fin.

Desde un principio me pareció aprovechable al efecto el fundamento del método seguido por Ernesto Caballero (1897) para conseguir sus preparaciones de Diatomeas. En mis primeros ensayos utilicé una aguja capilar de vidrio pegada a la montura del objetivo y con la punta perfectamente enfocada en el centro del campo miscroscópico; pero este

procedimiento tenía, entre otros, el inconveniente de la pérdida de tiempo cuando había que cambiar de aguja por rotura de ésta o por necesitarse otra de distinto calibre.

Al fin ideé un aparato, cuya descripción ya publiqué (J. de Urríes, 1945), que cumple perfectamente su objetivo y es sumamente sencillo y económico (1).

En los primeros aislamientos con este aparato empleé el sistema que en la descripción del mismo llamo procedimiento A; es decir, con la aguja dirigida de arriba abajo. Las siembras se realizaban en gotas de agar nutritivo colocadas en el centro de los porta-objetos y, una vez realizada la siembra, éstos eran llevados a unas cubetas con ranuras

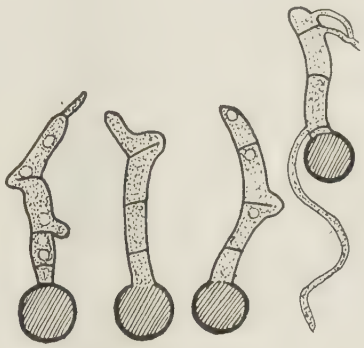


Fig. 1.—Agua corriente
Copulación entre células promiceliares (XI.500)

(de las empleadas en histología para el tratamiento de los cortes pegados a los portas), en cuyo fondo llevaban papel de filtro humedecido. A pesar de emplear material previamente esterilizado y guardar las precauciones debidas, las contaminaciones eran frecuentes. Por eso me decidí por el sistema B; es decir, utilizando la varilla acodada y estando dirigida la aguja de abajo arriba.

La marcha general seguida en mis experiencias se descompone en dos fases: *a)* Obtención de líneas monosporídicas, y *b)* Combinación de éstas entre sí.

a) Obtención de líneas monosporídicas

El orden seguido fué el siguiente:

1. Preparación de la gota pendiente: La germinación de las clamidosporas tiene lugar en gotas de agar-patata (2) sobre cubre-objetos,

(1) Para detalles del mismo, remito al lector al trabajo original.
(2) Preparado siguiendo las instrucciones de Thom (1930).

sostenidos con anillos de vidrio colocados dentro de cajas Petri, que llevan en su fondo papel de filtro humedecido. Estos cubres llevan en su cara superior un pequeño trazo marcado con tinta antes de ser flameados (1).

2. Siembra: Las esporas proceden de ovarios aún cerrados (de otro modo no es posible evitar la contaminación con levaduras, bacterias, etcétera) y ligeramente flameados antes de romperlos. Con el hilo de platino se extienden a modo de un sutil polvillo. El cubre así preparado

Fig. 2.—(Agar patata) Reacción positiva.

se guarda sobre un anillo de vidrio dentro de una caja Petri, y de allí se saca en el momento de la siembra.

Con ayuda de mi aparato, y siguiendo las instrucciones de modificar la longitud del tubo del microscopio y girar el tornillo micrométrico, que con todo detalle se explanan en mi referida publicación, se siembran las esporas en las gotas de agar, procurando colocarlas coincidiendo con los extremos de la rayita de tinta. Una vez sembrados los cubres, se vuelven a las cajas de Petri húmedas.

3. Separación de los esporidios: Después de dieciseis a veinticuatro

(1) Este detalle, tomado de la técnica seguida por Hütting (1931), evita muchas pérdidas de tiempo al tratar de localizar la espora sembrada. Yo hice la señal antes de flamear el cubre; así la tinta se seca y no se corre, cosa que ocurrió con frecuencia cuando hacía la marca inmediatamente antes de sembrar la espora.

Como recomienda Thren (1937), las gotas deben tenerse preparadas con unas horas de anticipación. De este modo se secan luego con menos facilidad.

horas de permanencia en la estufa a 20° c., las esporas están germinadas, han formado el promicelio y, adheridas a él, hay ya algunos esporidios.

Elegida, entre las dos sembradas, la espora en que las relaciones entre promicelio y esporidios estén más claras, se tocan con la aguja del aparato cuatro esporidios originados en las distintas células del promicelio, se separan entre sí y se dejan en lugares bien apartados de la misma gota. De las posiciones relativas en que quedan estos cuatro esporidios se hace un esquema.

b) *Combinación de esporidios*

Unas veces al día siguiente, y en otras ocasiones a los dos o tres días de separados, cuando cada esporidio ha dado origen a una colonia más o menos grande, se procede al aislamiento y combinación de los mismos.

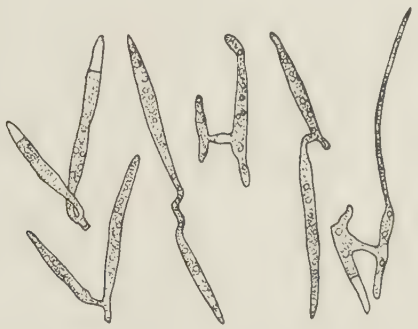


Fig. 3.—(Agar patata). Del tubo de la Fig. 2. Copulación entre esporidios (X 2.100).

Al principio, trasladaba con el alambre de platino estas colonias, ya visibles a simple vista, a tubos con agar-patata para su conservación. De estos tubos tomaba, también con el alambre de platino, pequeñas muestras, que combinaba en nuevos tubos con el mismo medio.

Perfeccionando la técnica, y con objeto de combinar esporidios recién producidos por el promicelio, para ver si así las copulaciones eran más fáciles, procedí de este otro modo: a las veinticuatro horas de apartados, trasladaba los esporidios, con la micro-aguja, a nuevas gotas de agar nutritivo, donde hacía las combinaciones binarias de los mismos. Estas gotas eran trasladadas, acto seguido, a los tubos. Estos contenían primeramente agar-patata; pero luego empleé con preferencia este mismo medio ligeramente alcalinizado.

Mantuve los cultivos (mientras las restricciones eléctricas lo permitieron) en la estufa a 20° c.

B) Resultados obtenidos

A a temperatura de 20° las esporas comienzan su germinación, por lo general, antes de las ocho horas.

En todos los medios ensayados, tanto líquidos como sólidos (agua destilada, infusión acuosa de hojas de la planta matriz, solución acuosa de extracto de malta, agar-patata) el tanto por ciento de germinaciones se aproxima al 100 por 100, lo mismo en el material recién cogido que en el que llevaba cuatro o cinco meses en el laboratorio.

El tipo de germinación fué el mismo observado por anteriores investigadores. En el agua destilada y en la infusión de hojas de *Sorghum* se forma un promicelio 3-4-celular sin esporidios, o con éstos muy escasos. Comunmente se presentan puentes de unión entre las células del promicelio, como se ve en la figura 1, de significación sexual.

En otros medios más nutritivos la formación de los esporidios es exuberante, ya que los primeramente formados, incluso aún unidos al promicelio, dan lugar rápidamente a esporidios secundarios por gemación a modo de lavaduras. Las colonias así originadas son húmedas, de un blanco crema al principio, pero al cabo de unos días toman color pardo oscuro; su superficie presenta ligeras ondulaciones.

Trasladados los esporidios a gotas de agua, producen tubos germinativos largos y delgados, que terminan de crecer cuando se agotan las reservas en ellos contenidas. Este comportamiento dificultó la aplicación del «Wassermethode» de Bauch (1930 y 1932), ya que en el agua alcalina, lo mismo que en el agua destilada, los filamentos nacidos de los esporidios aislados son difíciles de diferenciar de las hifas diploides, cuando las hay.

En los tubos con agar-patata, en cambio, fué fácil observar a simple vista los resultados de las combinaciones. En caso de reacción sexual positiva, una ligera vellosidad blanca, producida por las hifas dicarióticas, forma como una aureola alrededor de la colonia (fig. 2.). El examen microscópico de muestras tomadas de estos tubos permite ver estados como los representados en la figura 3. El puente de comunicación nace muchas veces cerca del extremo de los esporidios. En algunos casos, hay cierta diferencia entre los esporidios copulados, bien de tamaño, o bien por lo que se refiere al nacimiento del filamento buscador. En colonias monosporídicas falta siempre la aureola de que se ha hecho mención.

En total, he trabajado con 82 esporas de la raza de Estada. Muchas experiencias se malograron por muy diversas causas, a saber: contaminación por bacterias, falta de germinación, fallo en el aislamiento de

algún esporidio, falta de multiplicación de alguno de los esporidios aislados, colonias de esporidios malogradas al pasarlas a los tubos o al hacer las combinaciones, origen dudoso de los esporidios separados, falta de copulación en todas las combinaciones realizadas, etc.

De todas estas causas enumeradas, las primeras fueron debidas casi únicamente a fallos en las manipulaciones realizadas, y fueron mucho más frecuentes en el curso 1944-45 que en el siguiente, en que adquirí más práctica y perfeccioné mi aparato micromanipulador. La falta de copulación, en cambio, la atribuyo, como dije, a un carácter inherente a la cepa estudiada.

Con el fin de no rebasar las limitaciones materiales de trabajo del laboratorio, hice únicamente combinaciones binarias entre líneas de esporidios procedentes de las cuatro células promiceliares de una misma clamidospora. Estas combinaciones fueron unas veces en número de 16 por espora; pero, en otros casos, no fué posible hacer más que seis, número que bastaba para el fin perseguido.

Pasa de veinte el número de esporas en las que logré aislar el equipo esporídico completo, lo que eleva a más de ochenta las líneas monosporídicas manejadas. A pesar de ello, por fallos en la copulación de las combinaciones, sólo con seis esporas obtuve resultados aprovechables para la interpretación del comportamiento sexual de la raza estudiada.

Resultado de las combinaciones bisporídicas

Espora	Combinaciones	Resultados	Espora	Combinaciones	Resultados
	1 × 1	—		1 × 1	—
	1 × 2	+		1 × 2	—
	1 × 3	+		1 × 3	+
	1 × 4	—		1 × 4	+
	2 × 1	—		2 × 1	—
	2 × 2	—		2 × 2	—
	2 × 3	—		2 × 3	—
Se-48.....	2 × 4	—	Se-53.....	2 × 4	—
	3 × 1	—		3 × 1	+
	3 × 2	—		3 × 2	—
	3 × 3	—		3 × 3	—
	4 × 1	—		4 × 1	—
	4 × 2	+		4 × 2	+
	4 × 3	—		4 × 3	—
	4 × 4	—		4 × 4	—

Espora	Combinaciones	Resultados
Se-54.....	1 × 1	—
	1 × 2	+
	1 × 3	—
	1 × 4	—
	2 × 1	—
	2 × 2	—
	2 × 3	—
	3 × 1	—
	3 × 2	+
	3 × 3	—
	3 × 4	—
Se-66.....	1 × 1	—
	1 × 2	—
	1 × 3	+
	1 × 4	—
	2 × 1	—
	2 × 2	—
	2 × 3	+
	2 × 4	+
	3 × 1	—
	3 × 2	+
	3 × 3	—
	3 × 4	—
	4 × 1	—
	4 × 2	—
	4 × 3	—
	4 × 4	—

Espora	Combinaciones	Resultados
Se-58.....	1 × 1	—
	1 × 2	—
	1 × 3	+
	1 × 4	—
	2 × 1	—
	2 × 2	—
	2 × 3	+
	2 × 4	—
	3 × 1	—
	3 × 2	—
	3 × 3	—
	3 × 4	—
	4 × 1	+
	4 × 2	—
	4 × 3	—
	4 × 4	—
Se-67.....	1 × 1	—
	1 × 2	—
	1 × 3	—
	1 × 4	—
	2 × 1	—
	2 × 3	+
	2 × 4	+
	3 × 1	—
	3 × 2	—
	3 × 3	—
	3 × 4	—
	4 × 2	—
	4 × 3	—
	4 × 4	—

El cuadro adjunto recoge las combinaciones efectuadas con los esporidios de las seis esporas que dieron resultados más completos y significativos.

Las líneas esporídicas van indicadas por las cifras 2, 3, 4, correspondientes al número de orden de la célula promiceliar de que proceden, comenzando a contar por la distal.

COMENTARIO

Obsérvese, por ejemplo, el caso de la espora Se-48; la combinación de esporidios (1 × 2) resultó positiva (hubo copulaciones); mientras la (2 × 1), que, en realidad, no es sino la misma experiencia repetida, resultó negativa (no hubo copulaciones).

Si, para mayor claridad, representamos en cuadrículas los resultados obtenidos, se comprenderá cuán justificado está el señalar con(-) o con (. . .) las combinaciones en que no hubo copulación, y distinguir de este modo el resultado de una combinación como la (2 × 1) del obtenido, por ejemplo, con la (2 × 3), ya que, según la interpretación que me parece más adecuada, habida cuenta a la resistencia a las copulaciones «in vitro» de la raza estudiada por mí (manifestada incluso con siembras de esporas en masa), ambos resultados negativos tienen significación muy distinta; con (. . .) señalo los casos que, como en la combinación (2 × 1), debieron haber sido (+), atendiendo a la diferencia entre los esporidios combinados.

La raza de *Sp. Sorghi*, sobre *Sorghum vulgare*, procedente de Estada, o mejor la de colonias de color pardo oscuro, única a que se refieren los resultados arriba apuntados (ya que en la misma localidad encontré asimismo otra raza de colonias de color crema claro, que no estudié), presenta, como el material de Rodenhiser (1932 y 1934) e Isenbeck (1935), «bipolaridad sexual» en las combinaciones de esporidios nacidos de un mismo promicelio. Para explicarlo basta, por lo tanto, admitir la monoheterocigotia de la clamidospora con separación de dos biotipos en la reducción cromática, que al formarse el promicelio tiene lugar.

La cuestión discutida en otro tiempo acerca de si fuera la primera o la segunda división la reduccional, la decidió Hüttig (1931), por lo que se refiere a los Ustilaginales, en el sentido de que ambos casos son posibles y en su determinismo influyen factores externos. Hoy día, el análisis genético de hongos pertenecientes a muy diversos grupos ha demostrado la posibilidad de una reducción de los distintos pares de alelomorfos en diferente división nuclear (1).

(1) Bessey (1935) dice que en caso de dos pares de alelomorfos habrá bipolaridad si los dos se reducen en la primera, o los dos lo hacen en la segunda división. Los cuatro núcleos distintos resultarán si hay prerreducción en un par y postreducción en otro. Sin embargo he de hacer notar que esto no es del todo exacto. Evidentemente, hay mayores probabilidades de tetrapolaridad entre los esporidios de un mismo promicelio si ocurre lo que dice este autor; pero también es posible un resultado tetrapolar en las mismas condiciones en caso de postreducción.

Si, como se ha observado en otros casos, al constituirse el promicelio, a cada división nuclear sigue la división celular, sin haber emigraciones de núcleos o cambios en sus posiciones relativas, resulta que en esporas como las Se-58, Se-66, Se-67 y Se-53 ha habido prerreducción, al menos para el par de aleles determinantes del comportamiento sexual, En otras esporas, como las Se-48 y Se-54, la división reduccional para dichos factores ha sido la segunda. En la Se-48 la figura es simétrica; en la Se-54 ésta es asimétrica (2) y (3).

Los esquemas que acompañan a las cuadrículas representan esto gráficamente; en ellos, las células promiceliares de signo opuesto van dibujadas en blanco o negro, respectivamente.

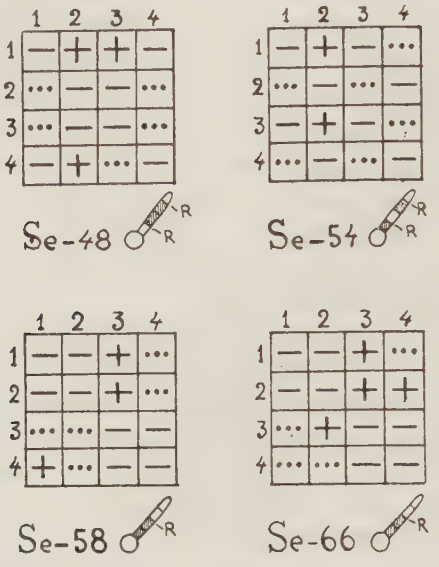


Fig. 14.—Interpretación de los resultados obtenidos

La razón «sexual» de los esporidios procedentes de un mismo pro-

---

En efecto; si la clamidospora es de la fórmula AA' BB', puede haber postreducción con un 50 % de probabilidades para este tipo de distribución de factores:

(AA'BB'), por div. ecuacional: { **(AA'BB'), por div. reduc.** { **(AB)** / **(A'B')** } / **(AA'BB'), por div. reduc.** { **(AB')** / **(A'B)** } }

y en este caso, aún habiendo postreducción en los dos pares, resultan cuatro biotipos diferentes.

(2) Whitehouse y Haldene (1946), analizando las ascosporas de algunos Ascomicetos encuentran más frecuentemente, en caso de postreducción, la forma asimétrica.

(3) Los promicelios estudiados por Rhodenhiser (Loc. cit) mostraron siempre postreducción. Shih (1938), estudiando el heterotalismo de *Sph. cruenta*, especie asimismo parásita del *Sorghum*, encontro siempre prerreducción.

micelio, ha sido, en mi caso, siempre la de 2 : 2. Es notable a este respecto el resultado obtenido por Rodenhiser (1).

Creo que mis experiencias bastan para probar el comportamiento sexual de la raza estudiada. Añadiré, finalmente, que no he encontrado un solo caso que se oponga a la interpretación que doy. Todos los resultados no aprovechables en su apoyo, aunque numerosos, lo son por su carácter probatorio nulo; pero nunca ha habido un solo resultado positivo en contra de tal interpretación.

SUMMARY

The author has studied the sex behaviour «in vitro» of a race of *Sph. Sorghi* isolated of *Andropogon Sorghum* from Estada (Huesca) Spain..

The race in question seems related to number II from Ficke and Johnston. The sporidia have little tendency to the copulation «in vitro».

With the aid of a simple micromanipulator invented by him, and described before (J. de Urríes, 1935), 80 monosporidial lines were obtained.

The bisporidial combinations between lines coming from a single chlamidospore show a bipolar behaviour. The results obtained allow to guess the occurrence of both pre and postreduction (four and two cases respectively) of the factors determining the sex behaviour of the sporidia.

---

(1) Este investigador trabajando con esporas de la misma especie que nos ocupa, separó los equipos monosporídicos de 3 esporas. Con dos de ellas, la razón fué la 2:2, pero con la tercera espora (la que se denomina S_1B) observará estos resultados:

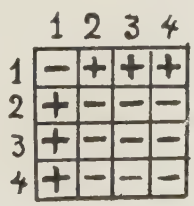


Fig. 5.—Del trabajo de Rodenhiser

También aquí hay dos grupos «sexuales», pero la razón no es 2:2, sino la de 3:1, ya que los grupos 2, 3, 4, son iguales entre sí y opuestos al grupo 1. Esto admite varias explicaciones; entre otras, una reducción anormal, o una reducción en la tercera división.

BIBLIOGRAFIA

BAUCH, R.—1922. *Kopulationsbedingungen und sekundäre Geschlechtsmerkmale bei Ustilago violacea. Biologisches Zentralblat*, 42.

BAUCH, R.—1930. *Uber multipolare Sexualität bei Ustilago longissima. Arch. f. Protistenkde*, 70.

BAUCH, R.—1932. *Sphacelotheca Schweinfurthiana, in neuer multipolar sexueller Brandpilz, Bericht. d. Deutsch. Bot. Gesellschaft L.*

BESSEY.—1935. *Textbook of Mycology, Philadelphia.*

CABALLERO, E.—1897. *Técnica de las preparaciones sistemáticas. An. Soc. Esp. Hist Nat.* XXVI.

FICKE, C. H. and. JOHNSTON, C. O.—1930. *Cultural characteristics of physiologic forms of Sphacelotheca Sorghi. Phytopath.* XX, 3.

HUTTIG.—1931. *Uber Einfluss der Temperatur auf die Keimung und Geschlechtverteilung bei Brandpilzen. Zeitschr. f. Bot.* XXIV.

ISENBECK, K.—1935. *Untersuchungen über die Physiologie von Sphacelotheca Sorghi, den gedeckten Körnerbrand von Sorghum. Phytopat. Zeitschr.* VIII, 2.

MELCHERS, L. E., FICKE, C. N. and JOHNSTON, C. O.—1932. *A study of the physiologic forms of Kernel smut (Sphacelotheca Sorghi) of Sorghum. Journ. Agric. Res.* XLIV, 1.

RODENHISER, H. A.—1932. *Heterotallism and hybridization in Sphacelotheca Sorghi and S. cruenta. Journ. Agr. Res.* XLV, 5.

RODENHISER, H. A.—1934. *Studies on the possible origin of physiologic forms of Sphacelotheca Sorghi and S. cruenta. Journ. Agr. Res.* XLIX.

RODENHISER, H. A. and BARNES, B. F.—1933. *Pathogenicity of certain hybrids of covered and losse smuts of Sorghum. Abs. in Phytopath.* XXIII.

SCHLEUMER, H.—1931. *Uber Sexualität und Zytologie von Ustilago Zeae (Beckm.). Ung. Zeitschr. f. Bot.* XXV.

SHIH, L.—1938. *Uber den Heterothallismus des Staubbrandes Sphacelotheca cruenta (Kuhn) Potter, der Mohrenhirse, Andropogon Sorghum Brot. Arch. Mikrobiol.* IX, 2.

THOM, CH.—1930. *The Penicillia. Baltimore.*

THREN, R.—1937. *Gewinnung und Kultur von monokariotischem und dikariotischem Myzel, Ein Beitrag zur Physiologie und Genetik des Gerstenflugbrandes Ustilago nuda (Jens.) Kellerm. et Sw. Zeits chr. f. Bot.*, 31.

TYLER, L. J. and SHUMWAY, C. P.—1935. *Hybridization between Sphacelotheca Sorghi and Sorosporium reilianum. Phytopatology.* XXV.

URRIES, M. J. DE.—1945. *Un sencillo aparato para aislar esporas. Anales del Jardin Botánico.* Madrid. V.

WHITEHOUSE, H. L. K. and HALDENE, J. B. S.—1946. *Symetrical and asymetrical reduction in Asconycetes. Journ. Gente* XLVII

ESCUELA NACIONAL DE SANIDAD. — MADRID

TÉCNICA PARA LA EXTRACCIÓN DE SANGRE DE ANIMALES DE LABORATORIO Y SU APLICACIÓN AL HEMOCULTIVO SERIADO EN RATONES

R. Ibáñez González

En el curso de nuestros trabajos sobre poder antigénico de ciertos microorganismos (4-5-6), habíamos observado al tratar de exaltar la virulencia para el ratón de aquellos que carecen inicialmente de ella o la poseen escasa—que muchos de los animales inoculados que no sucumbieron mostraron usualmente a las veinticuatro-cuarenta y ocho horas de la inyección síntomas de enfermedad que podían achacarse a una septicemia de la que el animal lograba recuperarse.

Esto ocurría aún en los casos en que se empleaba el método de Miller (7) u otros similares, que tienen por objeto paralizar, mediante ciertas substancias añadidas a los microorganismos, las defensas locales del peritoneo; vía generalmente empleada para estas inoculaciones. El sacrificio de los animales a las veinticuatro-cuarenta y ocho horas de la inoculación y las siembras de sangre y cerebro, nos revelaron que, efectivamente, en algunos de ellos se podía recuperar el germen inyectado, pero en otros no. Estos son los casos en que la muerte del animal no se produce por septicemia, sino por la acción tóxica de la fuerte dosis de gérmenes que es preciso inocular en los primeros pases.

En suma, tropezamos con la dificultad de no poder recuperar sistemáticamente el germen en los primeros pases para continuar la exaltación de su virulencia, resultando evidente que, a menos de inyectar y sacrificar un gran número de animales con dosis variadas—desde la que puede matar rápidamente por toxemia a la que no produce septicemia—, procedimiento bastante laborioso y caro, la única posibilidad sería sorprender, mediante hemocultivos seriados, la fase septicémica

Microbiología Española.—Vol. 1.° 1947. *Presentado el día* 4 *de Noviembre de* 1946.

más o menos fugaz. Esto requería una técnica de extracción de sangre que obtuviese asépticamente suficiente cantidad de la misma para siembras abundantes, dejase al animal vivo y poco lesionado para poder repetir las extracciones y, sobre todo, fuese de fácil y segura ejecución.

Ninguna de las técnicas de extracción de sangre en animales de laboratorio, descritas en la literatura que hemos podido consultar, reúne las condiciones apetecidas, pero la lectura del excelente libro *The Rat*, editado por Griffith y Farris (3), en el que se agota el estudio de la rata como animal de experimentación, nos sugirió la posibilidad de utilizar una vía, adecuada al fin propuesto, la vía transorbitaria, suponiendo accesible por ella algún vaso de capacidad suficiente en conexión con los senos cerebrales.

Comoquiera que se ha logrado el propósito y no hemos encontrado descrita esta técnica, decidimos publicarla, en la creencia de que pueda ser útil para algunos investigadores.

Vía de extracción de la sangre

No nos hemos propuesto en este trabajo hacer una descripción de la región anatómica en los diversos animales en que la extracción de sangre puede realizarse por vía transorbitaria y sólo a título de ilustración presentamos unos dibujos tomados del libro *The Rat* para mostrar la región correspondiente y el vaso sanguíneo de donde, con toda probabilidad, procede la sangre extraída. Es posible que más adelante completemos el estudio con datos anatómicos más concretos y personales, si no surge un anatómico a quien interese este problema.

La figura 1 representa el aspecto dorsal de un cráneo de rata sobre el que se ha sombreado el seno longitudinal superior, el transversal y el vaso que Greene (2) describe con el nombre de *vena cerebral inferior*, de la que procede, al parecer, la sangre extraída por nuestro método. Esta disposición queda perfectamente visible en la figura 3, que representa el aspecto dorsal del sistema venoso del cerebro de la rata. Si comparamos esta figura con la 1 y 2, vemos que la vena cerebral inferior queda inmediatamente junto a la órbita, pegada a la pared interna del hueso—como señala la flecha—, justamente en el sitio por donde se penetra siguiendo esta técnica de extracción, lo que explicaría el abundante flujo de líquido hemático procedente de un vaso relativamente grueso.

La figura 4 ilustra todavía más las indicadas relaciones anatómicas. Representa la cabeza de una rata de la que se ha desprendido un colgajo dorsal y se ha separado media calota, observándose las relaciones de contigüidad de la órbita con la vena cerebral inferior que representa

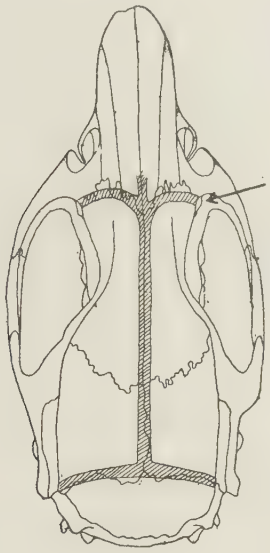


Fig. 1

Aspecto dorsal del cráneo de la rata. (Greene)
Se ha sombreado la parte correspondiente a los senos cerebrales y vena cerebral inferior. La flecha señala el lugar en donde se practica la punción.

la figura 5, se aprecia un vaso arterial, cuya rama superior penetra en la órbita, precisamente por el sitio donde se opera. En efecto, cuando se punciona muy superficialmente en el reborde orbitario se puede extraer, aunque en pequeña cantidad, sangre de tipo arterial, cuyo color contrasta claramente con la venosa, que se consigue con una punción más profunda.

Finalmente, reproducimos dos angiogramas del cerebro de la rata, obtenidos por Pendergrass y Griffith (8) utilizando el Thorotrast como

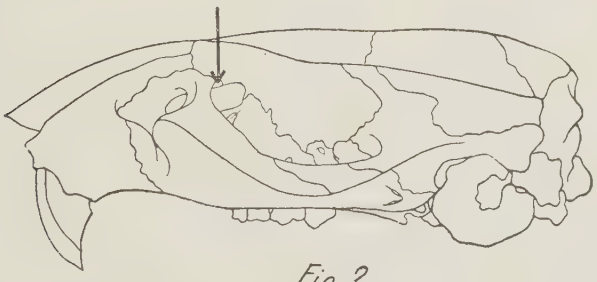


Fig. 2.

Aspecto lateral del cráneo de la rata. (Greene). — La flecha señala el sitio de la punción.

contraste y previa decalcificación del cráneo. Nótese, en el lugar señalado por la flecha, que corresponde a la zona transorbitaria la riqueza en vasos sanguíneos gruesos, de algunos de los cuales creemos procede la sangre extraída, posiblemente a través de alguna de las suturas óseas de esta región.

Técnica de la extracción

Se estiran pipetas Pasteur estériles en dos veces. La primera en la forma habitual, procurando dejar un capilar no demasiado fino. Sobre una llama débil se estira de nuevo de manera que se consiga una punta alargada y aguda. Finalmente, se mojan las paredes de la pipeta por

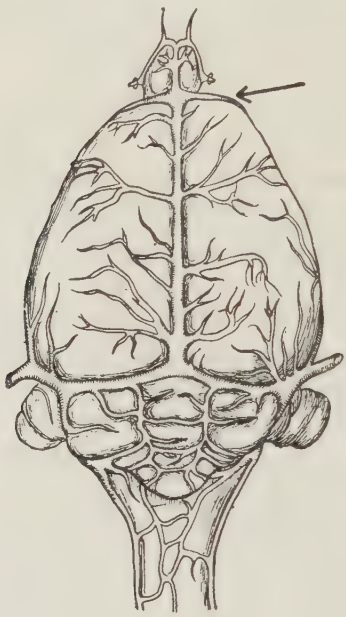


Fig. 3.

Aspecto dorsal del cerebro de la rata, con sus vasos superficiales. (Greene).
La flecha señala la vena cerebral inferior.

absorción y expulsión con aceite de vaselina estéril o se absorbe por capilaridad en la pipeta unas gotas de una solución de oxalato potásico o nitrato sódico. Se trata de evitar la rápida coagulación de la sangre en la extremidad del capilar.

El animal se anestesia con éter o algún otro anestésico, con lo cual

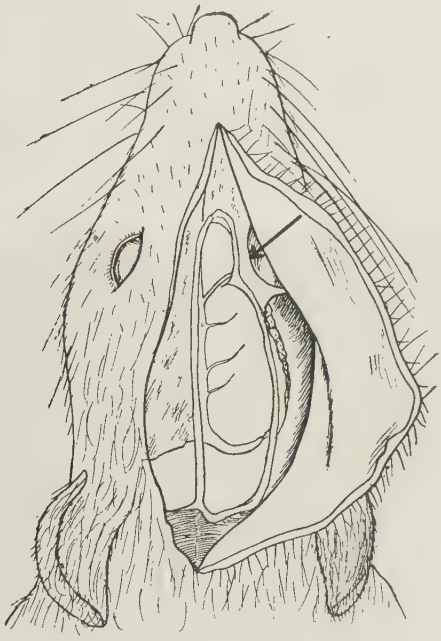


Fig. 4.

Aspecto dorsal de la cabeza de la rata, mostrando el cerebro en relación con el exterior. (Greene).

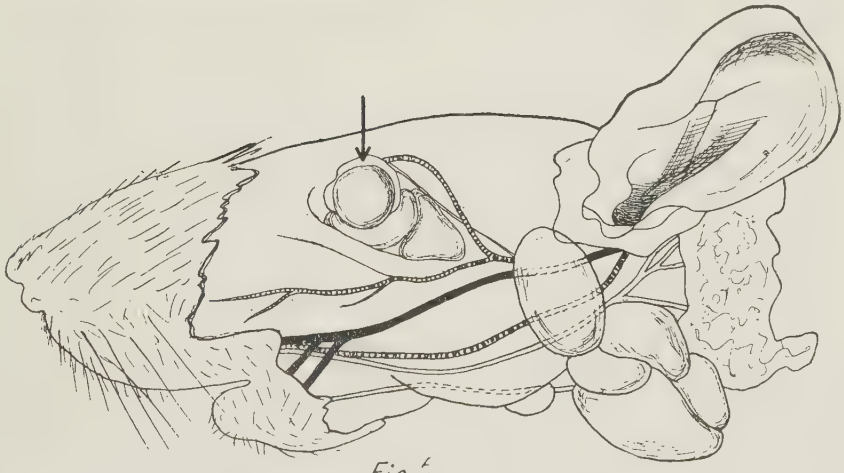


Fig 5

Aspecto lateral de la cabeza de la rata. (Greene). La flecha indica el sitio de la punción. Nótese la rama arterial que penetra en órbita por dicho lugar.

se opera más cómodamente, pero puede prescindirse de aquella si no es conveniente por otras razones. Cuando se trata de ratones aún sin anestesia, el operador puede inmovilizar al animal con la mano izquierda y operar con la derecha. Con animales mayores sin anestesiar, como ratas y cobayos, conviene inmovilizarlos en posición prono sobre una bandeja o soporte adecuado. Cuando la sangre ha de servir para hemo-

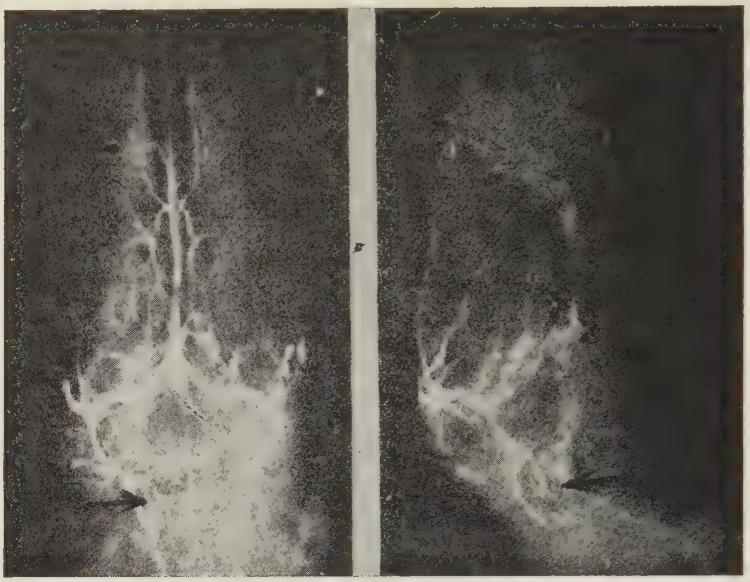


Fig. 6. — Angiogramas del cerebro de una rata. (Pandergrass y Griffith). Se han señalado los vasos correspondientes a la zona transorbitaria.

cultivo es preciso extremar las condiciones de asepsia usualmente empleadas en toda punción. Se depila a dedo—en el ratón, dada la finura de su piel, no es necesario—una zona, que comprende desde reborde orbitario hasta línea media de la cabeza.

Se obtura la abertura parpebral desplazando con el pulgar de la mano izquierda, provista de guante de goma, la piel del animal (zona dep.lada) para evitar, por una parte, que el antiséptico empleado penetre en el ojo, y, por otra, conseguir que el orificio de la piel no coincida, una vez en su posición normal, con el de entrada en la órbita. Se pinta abundantemente la zona depilada con solución alcohólica de yodo u otro antiséptico adecuado y se practica la punción como diremos ahora. Dada la dureza de la piel del cobayo, si la extracción se realiza con pipeta Pasteur, conviene practicar una pequeña incisión con bisturí a nivel de reborde orbitario a través de la cual se realizará la punción.

Se punciona con la pipeta a nivel de reborde orbitario, aproximadamente hacia su tercio anterior(*), y después de atravesar la piel se penetra unos milímetros siguiendo la pared superior de la órbita. Repentinamente empieza a fluir la sangre por capilaridad en la pipeta, la cual se retira una vez obtenida la cantidad precisa de aquélla, haciendo entonces presión suave sobre la región de manera a hacer hemostasia, a lo que ayuda el propio globo ocular del animal, que, al puncionar, se pro-

Fig. 7.—Extracción de sangre vía transorbitaria en ratones

pulsa ligeramente hacia fuera. Si no se hace así la sangre continúa derramándose en la órbita, produciéndose un hematoma que puede interferir posteriores punciones.

La cantidad de sangre que puede extraerse es relativamente considerable, tanta como sea compatible con la vida del animal. En ratones de 18-20 grs. tomamos aproximadamente 0,5 c. c. para hemocultivos, pudiéndose repetir la extracción por lo menos cada veinticuatro horas.

Aplicación de la técnica al hemocultivo

Al presente la técnica descrita ha sido aplicada por nosotros al hemocultivo en ratones y cobayos. En los primeros, trabajando en la exaltación de virulencia de microorganismos del género Brucella (5-6) y Hemophylus (4), habiéndonos resultado de gran utilidad, especialmente

(*) En el cobayo se percibe a ese nivel una escotadura claramente perceptible por palpitación.

en los primeros pases en que la muerte del animal, como se ha expuesto antes, no ocurría con regularidad. En los cuadros número 1 y 2 se tabulan los resultados de dos experiencias.

Usualmente los hemocultivos se han practicado sembrando directamente la sangre desde la pipeta, dejando resbalar por la superficie de agar común o agar sangre y sembrando, además, unas gotas en caldo común o caldo glucosado. Cuando la septicemia no es muy grande,

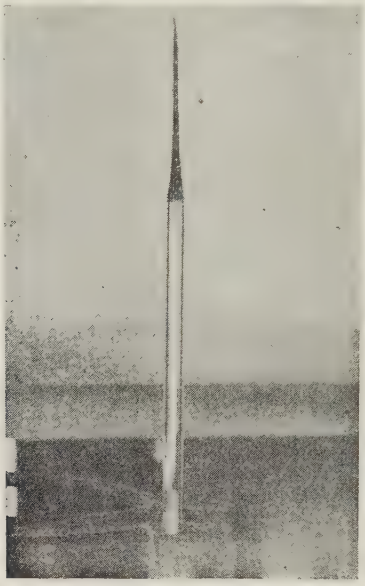


Fig. 8.— Pipeta de extracción después de ser utilizada. (Aproximadamente mitad de su tamaño natural).

crecen colonias aisladas en el agar que pueden ser picadas y resembradas, caso de que se presente contaminación, lo que acontece raras veces si la extracción se hizo correctamente.

En cobayos hemos practicado hemocultivos con la sangre extraída por esta vía con objeto de separar, antes de ser inoculados de tifus exantemático (servicio del Dr. Gallardo, Escuela Nacional de Sanidad), a aquéllos que tuviesen en sangre una pasteurella, que había sido aislada de los cerebros de pase y que venía contaminándonos las cepas de Riketsias. En efecto, en un cierto número de cobayos, destinados a la inoculación, se aisló el referido germen por hemocultivo.

Otras aplicaciones de la técnica

Aparte del fin con que nosotros hemos empezado a utilizarlo, el procedimiento puede tener otras aplicaciones. En primer lugar, y en relación con la Inmunología, se podrán estudiar mejor los anticuerpos defensivos en animales tan pequeños como el ratón, construyéndose curvas de incremento y de extinción de dichos anticuerpos en estos animales sometidos a inmunización. En el mismo orden de ideas y en lo referente a valoraciones de productos de inmunización activa o pasiva podrá recurrirse a un punto límite fundado en lo que podríamos

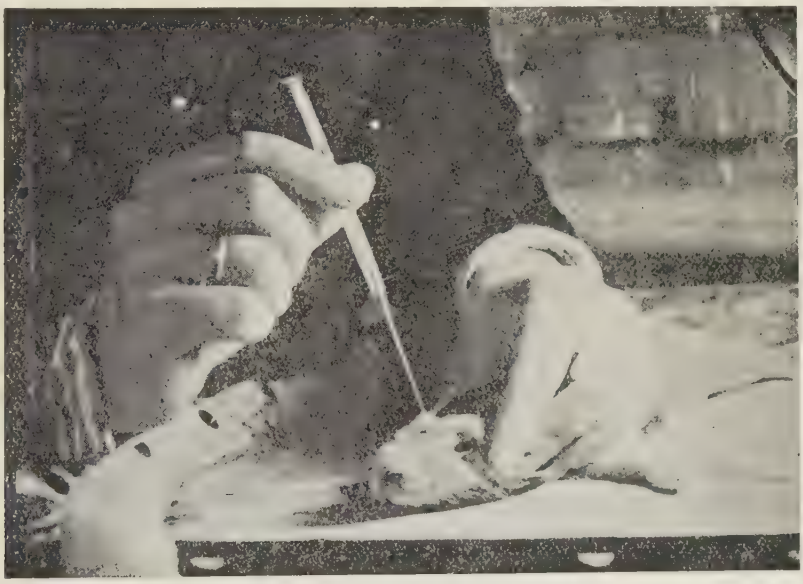


Fig. 9.—Extracción de sangre vía transorbitaria en cobayo

llamar *dosis septicémica*, que tendría la ventaja de poder apreciar grados de resistencia del animal que no pueden estimarse con el punto límite muerte empleado hasta ahora, y que se funda en acciones tan distintas como son la muerte o supervivencia del animal.

En segundo lugar se podrán elaborar métodos de valoración de substancias curativas, fundados en una infección artificialmente producida y controlable por grado de septicemia, de tal manera que existe la posibilidad de seleccionar previamente los animales enfermos y distribuirlos en grupos, con arreglo al número de gérmenes por c. c. de sangre, con lo cual los resultados serían absolutamente comparables.

Un método de este tipo para valorar los antibióticos, especialmente la penicilina, sería de gran utilidad. Empiezan ya a oirse y leerse sugestiones de los clínicos en el sentido de las grandes diferencias cualitativas que presentan en la Clínica las penicilinas comerciales, las que, no obstante, medidas por el método de in vitro, muestran una actividad similar. Como ellos dicen, es evidente que en clínica los antibióticos ejercen su acción en la intimidad de un ser vivo con todas las condiciones complejas que ello supone, variables además según el proceso de que se trate, y de ninguna manera con la simplicidad con que actúan frente a los gérmenes en los métodos de valoración in vitro.

La utilidad del método en Fisiología y Bioquímica se deduce del hecho de poderse emplear en investigaciones de ese tipo un animal (rata o ratón) que constituye una masa viva reaccionante pequeña, económica y de fácil manejo, de la que se puede obtener, repetida y cómodamente, sangre para microanálisis, como si se tratase de animales grandes, con la ventaja de poderse emplear un número suficiente para compensar las variaciones individuales. Así Gallego (1), en el Instituto Cajal, está empleando con éxito esta técnica de extracción en sus investigaciones bioquímicas en ratas, y Ruiz Gijón (9), en el Centro Técnico de Farmacobiología, trabaja en la elaboración de un método para valorar la insulina en ratones, fundado en la determinación de la glucosa en la sangre extraída del animal por nuestro método.

Finalmente, la aplicación de esta técnica, con instrumental adecuado, puede resolver el problema de la extracción de sangre, para pruebas y sangrías parciales, en el cerdo, sometido a inmunización con virus de la peste, según nos ha sugerido Gallardo. Actualmente, como es sabido, se hacen estas sangrías por sucesivos cortes del rabo, siendo por tanto indispensable que el animal posea este apéndice y obligando a practicar la sangría total el agotamiento del mismo.

Conclusiones

1.ª Se describe una técnica de extracción de sangre por vía transorbitaria en animales de laboratorio.

2.ª Con ella se pueden extraer cantidades hasta de 0,5 c. c. en ratones y repetir las tomas por lo menos cada veinticuatro horas.

3.ª La operación es perfectamente tolerada por el animal y la sangre se puede obtener asépticamente para hemocultivo.

4.ª El método ha sido ensayado con éxito en cobayos, ratas y ratones.

5.ª Se sugieren varias aplicaciones del método en diversos trabajos de investigación.

Deseamos mostrar nuestro agradecimiento a los Doctores Clavero, Gallardo y M. Mata, por sus estímulos y sugerencias; al Sr. Cuesta, por la admirable reproducción de los dibujos, y al Sr. Stanek, por sus magníficas fotografías.

CUADRO NUM. 1

Hemocultivo vía transorbitaria (ratones): Género Brucella

Microorganismos	Hemocultivos (Horas)				Supervivencia (Horas)	Recuperación germen post. morten
	24	48	72	96		
Br. M. Picazo...	+	...	...	...	48	+
Br. M. Flores....	—	...	...	...	36	—
Br. M. Moreno...	+	...	...	...	48	+
Br. M. Tárrega..	...	...	...	...	— 24	+
Br. M. 1.....	+	—	—	—	Sobrevive	...
Br. M. 2.....	+	...	...	...	48	+
Br. M. 3.....	+	...	...	...	48	+
Br. M. 4.....	+	+	...	...	72	+
Br. M. 7.....	+	...	...	...	48	+
Br. M. 8.....	+	...	...	...	48	+
Br. A. 1.....	+	+	...	...	72	+
Br. A. 2.....	+	—	—	—	Sobrevive	...
Br. A. 3.....	—	+	—	—	Id.	...
Br. A. 5.....	—	—	—	—	Id.	...
Br. A. 6.....	—	—	+	...	96	+

Br. M. = Brucella Melitensis; Br. A. = Brucella Abortus.
Inóculo: 2.000 M. de gérmenes; vía peritoneal.

CUADRO NUM. 2

Hemocultivo vía transorbitaria (ratones): Género Hemophylus

Microorganismos	Ratones	Hemocultivos (Horas)				Supervivencia Horas	Recuperación germen post. morten
		24	48	72	96		
H. Pertussis. I ..	1	+	—	—	—	Sobrevive	...
	2	—	—	—	—	Id.	...
	3	...	...	...	...	— 24	—
H. Pertussis. II .	1	—	+	+	...	96	+
	2	+	+	...	...	72	+
	3	+	...	...	...	48	+
H. Pertussis. III.	1	—	—	—	—	Sobrevive	—
	2	—	+	—	—	Id.	...
	3	—	—	—	—	120	+

Inóculo: Aproximadamente 5.000 M. de H. Pertussis + Almidón, vía peritoneal.

RESUMEN

1.ª Se describe una técnica de extracción de sangre por vía transorbitaria en animales de laboratorio.

2.ª Con ella se pueden extraer cantidades hasta de 0,5 c. c. en ratones y repetir las tomas por lo menos cada veinticuatro horas.

3.ª La operación es perfectamente tolerada por el animal y la sangre se puede obtener asépticamente para hemocultivo.

4.ª El método ha sido ensayado con éxito en cobayos, ratas y ratones.

5.ª Se sugieren varias aplicaciones del método en diversos trabajos de investigación.

SUMMARY

1. *A method blood extraction by transobitary way, in laboratory animals, is described.*

2. *With this method it is possible to extract quantities up to* 0,5 *c. c. from mice, and repeat the takings at least every* 24 *hours.*

3. *The operation is perfectly supported by the animal and the blood can be obtained aseptically for hemoculture.*

4. *This method has been practised with succes in Guinea-pigs, rats, and mice.*

5. *Here are suggested several applications of this method in diffeent works o_ research.*

BIBLIOGRAFIA

(1) GALLEGO, A.—*Comunicación personal.*
(2) GREENE, E. C.—*The Rat.* (1942); pág. 23.
(3) GRIFFITH, J. Q. and FARRIS, E. J.—*The Rat.* (1942).
(4) IBAÑEZ, R.—*Trabajo en preparación.*
(5) IBAÑEZ, R.—*Rev. San. Hig. Publ.*, XIX (1945), 749.
(6) IBAÑEZ, R. Y MARTINEZ MATA, J.—*Ibid.*, XIX (1945), 745.
(7) MILLER, R.—*Science.*, LXXVIII (1933), 340.
(8) PENDERGRASS, E. P. and GRIFFITH, J. Q. Jr.—*The Rat.* (1942); pág. 369.
(9) RUIZ GIJON, J.—*Comunicación personal.*

APORTACIÓN AL CONOCIMIENTO DE LAS BARTONELAS BOVINAS

Isidoro García Rodríguez

Existe un grupo de parásitos de los glóbulos rojos de diversos mamíferos que no tiene ninguna relación conocida con el de los hemosporidios, y cuyos representantes aguardan el estudio perfecto que permita determinar su verdadera naturaleza y la incorporación subsiguiente; ya a las bacterias, a los hongos o a los protozoos. El aludido grupo está compuesto—hasta ahora—por los géneros *Bartonella, Grahamella, Eperythrozoon* y *Erythrocitozoon*. El primero *(Bartonella)* se caracteriza por el gran polimorfismo de sus especies, que se presentan bajo forma de cocos, diplococos, halterios, bacilos, cocobacilos, anillos y elementos cocoides en ordenación catenaria; por no teñirse o teñirse mal con los colorantes de anilina, y aparecer, con el empleo del Giemsa, de un rojo que puede variar del rojo obscuro vinoso al rojo desvaído. Se sitúan en el interior del glóbulo sin localización determinada. Su inoculación a animales susceptibles va seguida de resultados positivos. Algunas especies son cultivables in vitro; su aparición o aumento se encuentran favorecidos por la esplenectomía.

Las *Grahamellas* son poco polimorfas, adoptando, generalmente, la figura de bacilos cortos y rechonchos; se tiñen bien por los colores de anilina, y con el Giemsa toman un color obscuro de tono azurófilo. No son influenciadas por la esplenectomía, y no son cultivables in vitro.

Los *Eperythrozoon* tienen forma de discos, semidiscos, esferoides y cocos; su situación en el hematíe es principalmente marginal, adosándose a su borde en orden catenario; se tiñen como las bartonelas.

El género *Erythrocitozoon*, creado por Donatien y Lestoquard, se

---

Comunicación leída el 4 de Noviembre de 1946 en la sesión científica celebrada por la Sociedad de Microbiólogos Españoles (Sección de Madrid).

distingue del anterior en que sólo le integran especies con individuos muy pequeños, puntiformes, no marginalmente dispuestos.

En esta ocasión, para nosotros únicamente tiene interés el género *Bartonella*, y dentro de él unas pocas especies nada más; pero en cuestiones donde la Ciencia todavía no ha arrojado una gran luz, es conveniente partir de puntos basales que eviten, al menos, la confusión genérica, permitiendo lanzarse con alguna seguridad por el campo de la diferenciación de especies.

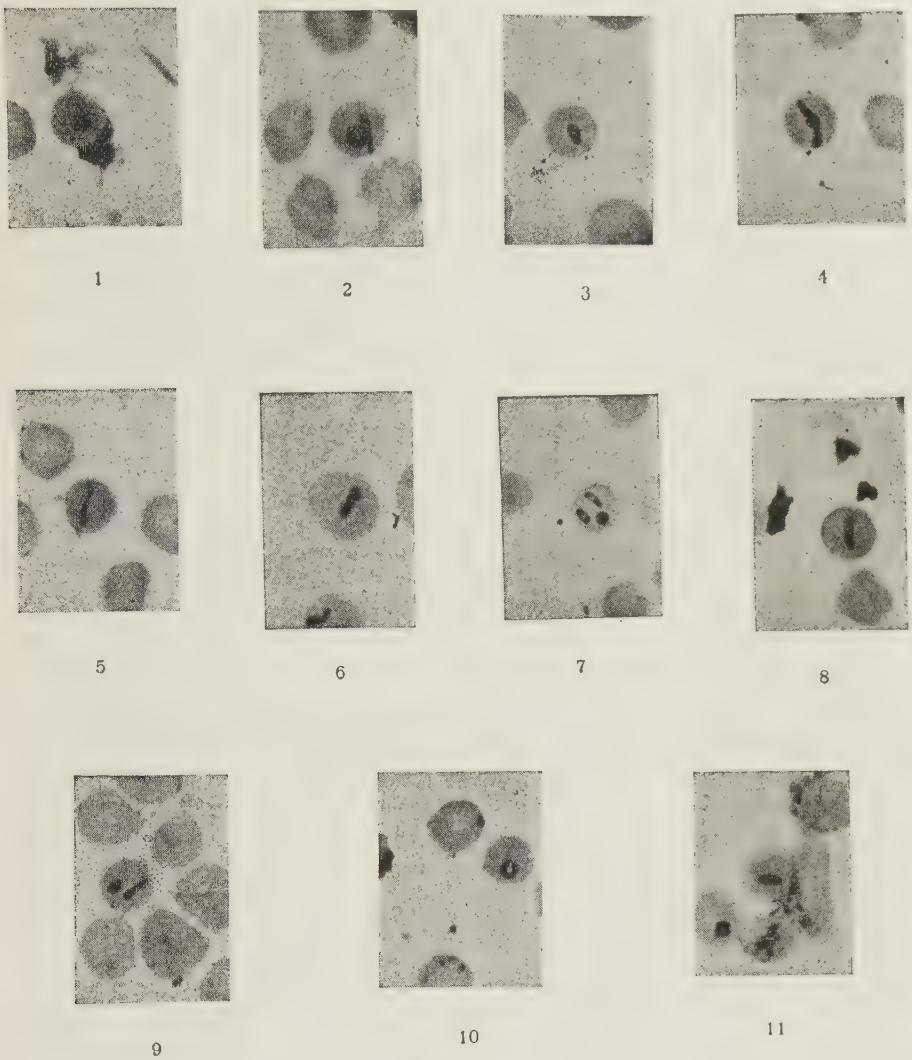
Las dos bartonelas primeramente conocidas y que sirven de tipos para el estudio de todas las demás, son: la *Bartonella* baciliforme del hombre y la *Bartonella* muris de la rata. La primera—según se sabe—es el agente causal específico de la enfermedad de Carrión, que tiene dos formas clínicas: la fiebre de Oroya y la verruga peruana. A ella son susceptibles, mediante inoculación—además del hombre, que también contrae la afección de modo espontóneo—, el macaco y el chimpancé. Ha logrado ser cultivada in vitro por Noguchi y sus colaboradores, y dentro de su polimorfismo destacan como típicas las formas cocobacilares de tinción bipolar que han servido para darle nombre.

La *B.* muris causa la anemia de las ratas esplenectomizadas, aunque Mayer la encontró, también, en roedores de esta especie infectados con tripanosomas y tratados con el Bayer 205. Es muy semejante a la anterior, si bien, son excepcionales las formas cocobacilares indicadas. Ha sido igualmente cultivada in vitro, y se muestran susceptibles a ella por inoculación, la rata y el ratón.

En 1929, Kikuth, aumentó el catálogo de las bartonelas con el descubrimiento de una más en un perro atacado de piroplasmosis y esplenectomizado. Le denominó *Bartonella canis*, y consideró en ella una morfología muy semejante a la de la *B.* baciliforme y la muris, especialmente a la de ésta. Es inoculable al perro con resultados positivos. No se ha logrado su cultivo in vitro.

Después de estos antecedentes necesarios, entremos de lleno en el tema objeto de la comunicación: En la vaca ha sido señalada la existencia de las siguientes especies de bartonelas: *B. bovis* (Donatien y Lestoquard, 1934, Norte de Africa); *B. sergenti* (Palestina, 1934, Adler y Ellenbogen); *B. wenyoni* (Nieschulz, Indias Holandesas, 1938), y, finalmente, *B. magna*, descubierta por nosotros en Madrid y descrita por primera vez en 1935.

Ninguna de ellas ha podido ser cultivada in vitro; para las tres primeras ha resultado positiva la inoculación a individuos de la misma especie; no se llevó a cabo esta prueba con la cuarta. Esta breve y escueta descripción nos muestra la inutilidad de cualquier otro criterio



Bartonella magna

Figs. 1 y 10, formas anulares; 3 y 7, cocobacilares; 4, 5, 6 y 11, closthridiales; 8 y 9, bacilares; 2, formas anular y bacilar. En la 10 también se advierten formas anaplasmoides.

(Microfotografías de I. García).

que no sea el puramente morfológico, para distinguir y diferenciar las citadas especies.

La *B. bovis* (Donatien y Lestoquard) fué hallada en un toro importado de Francia al Norte de Africa, el cual padecía falsa fiebre de la Costa debida al *Theileria mutans*. Las bartonelas aparecieron al ser esplenectomizado, y, según sus descubridores, son idénticas a la *B. muris*

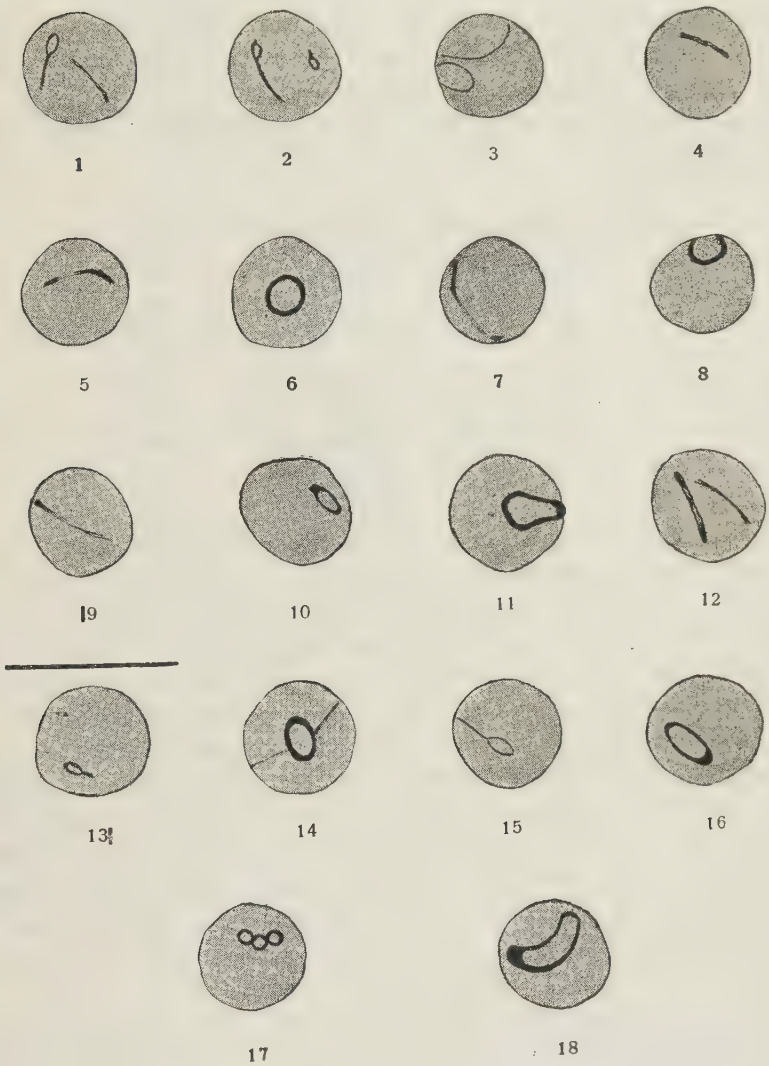
y *canis*, mostrándose como cocos y diplococos de un diámetro de 0,3 micras; cocobacilos simples o dobles de 0,6 a 0,8 por 0,3 micras; y bastones o bacilos de 1,3 a 2,2 micras. Con el Giemsa se tiñen cual los piroplasmas; pueden hallarse de 1 a 20 por hematíe, viéndose parasitados el 20 por 100 de éstos; la situación en el glóbulo es tanto central como marginal.

La *B. sergenti* es baciliforme y llega a alcanzar hasta una micra de longitud; su situación no es nunca marginal. La *B. wenyoni* de Nieschulz es cocoide, de cocos algo ovalados; se sitúa con preferencia en el borde del hematíe en disposición catenaria; su tamaño oscila entre 0,3 y 0,5 micras. Fué encontrada por el autor antedicho en un ternero inoculado con una mezcla de piroplasmas, y la identificó con el *Eperythrozoon venyoni* de Adler y Ellenbogen, pero estimando errónea la inclusión en el expresado género *(Eperythrozoon)*.

La *B. magna* la encontramos nosotros accidentalmente en una vaca procedente de Granada y sacrificada de urgencia en el matadero de Madrid. A la vez que algunos *theilerias mutans*, registramos la existencia del parásito que pasamos a describir brevemente:

Parasita el 2 por 100 de los glóbulos, y el número de parásitos por hematíe oscila de 1 a 4. La situación es totalmente intraglobular, tanto central, o más o menos excéntrica; aparecen casi siempre aislados y muy excepcionalmente en cortas cadenas de dos o tres elementos. El Giemsa los tiñe en rojo, que varía desde el rojo desvaído en los individuos de mayor tamaño, al rojo obscuro vinoso en los más pequeños. En muchos, sólo es teñida la porción periférica, quedando clara la parte central (anillos, óvalos, etc., etc.); en los cocobacilos la tinción es bipolar; en los bacilos más grandes permanecen no afectados por los colorantes unos espacios que semejan esporos.

Su polimorfismo es tan extraordinario que—para el mejor estudio—justifica la siguiente división: Formas bacilares y cocobacilares, closthridiales, anulares, ovales y lineales y anaplasmoides. Constituyen las primeras (formas bacilares y cocobacilares), de un lado, elementos parasitarios de figura claramente bacilar, rectilíneos o levemente curvados, teñidos uniformemente en toda su longitud, y que miden de 2 a 4,5 micras de largo; y de otro, formas como cocobacilos, de tinción bipolar, que semejan pasteurelas y tienen una longitud de 1,5 a 2 micras; algunas se muestran algo curvadas. Al tipo closthridial corresponden bacilos o bastones largos y, generalmente, gruesos, tanto rectos como curvos, que ya en el centro o en un extremo dejan ver un espacio claro oval o circular como si fuera un esporo; miden de 5 a 6,5 micras de longitud. Las formas anulares se ofrecen cual anillos bastante perfectos, aislados o unidos tangencialmente (2 ó 3 cuando más); su diámetro es de 2 a 3



Bartonella magna

Figs. 1 y 2, formas closthridiales; 3 lineales; 4 bacilares; 5 y 7, lineo-bacilares; 6 y 8, anulares; 9 y 12, lineo-bacilares; 10 y 13, closthridiales; 11, oval deforme; 14, oval y lineales; 15, closthridial; 16, oval; 17, anulares tangenciales; 18, oval curvada.

(Dibujo semiesquemáticos de I. García).

micras. De las figuras ovales sólo cabe decir que se tiñen periféricamente como las anulares, de las que las separa, además de la forma propia que les da nombre, su mayor tamaño (3,5 a 4 micras). Finalmente, son dignas de mención unas a modo de líneas irregulares curvas o quebra-

das, mal teñidas, cual trazos arbitrarios e imperfectos y, también, figuras puntiformes, con tinción en rojo obscuro, de sólo unas décimas de micra, y que recuerdan a los anaplasmas.

Sirviéndonos de la precedente división morfológica, hemos obtenido la fórmula parasitaria que sigue:

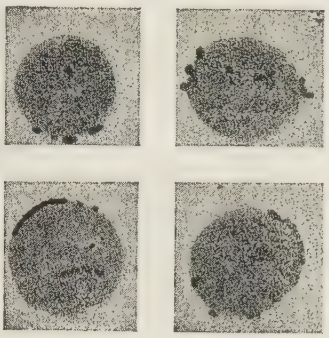
Formas bacilares y cocobacilares.....	22
— closthridiales.....	11
— anulares.....	50
— ovales.....	8
— lineales y anaplasmoides.....	9
TOTAL.....	100

Al incluir el parásito acabado de describir dentro del género *Bartonella*, hemos hecho uso de un método ecléctico (analogía y exclusión). Si, en efecto, por un lado se comparan las formas cocobacilares de nuestro parásito con las de la *B. baciliforme*, se advertirá inmediatamente la identidad que media entre unas y otras; y si, por otro, se pretende hallar separadamente la correspondencia de caracteres genéricos con los géneros *Grahamella*, *Eperythrozoon* y *Erythrocitozoon*, el resultado que se obtenga será la exclusión de uno tras otro por las diferencias fundamentales apreciadas. No puede nuestro sujeto de estudio pertenecer al primero de los géneros citados *(Grahamella)*, por su polimorfismo, su tamaño y modo de teñirse; tampoco al segundo *(Eperythrozoon)*, por su situación en el glóbulo—nunca marginal—, y, también, por su forma y tamaño; y menos al tercero *(Erythrocitozoon)*, que le componen solamente elementos puntiformes muy pequeños.

Forzoso es, pues, conceder a nuestro parásito la inclusión en el género *Bartonella;* mas ¿de qué bartonela se trata? Su identificación con las hasta el momento actual registradas en la vaca, se ofrece difícil y, a decir verdad, imposible. Porque, ciertamente, ¿cual de entre ellas alcanza el tamaño prócer de 6,5 micras?: La *B. bovis* no pasa de 2,2 micras; la *sergenti* se queda en 1 micra, y la *wenyoni* ni siquiera llega a la unidad (0,3 a 0,5 micras). Por otra parte, ni una sola de éstas presenta las formas closthridiales, ni los óvalos y anillos grandes, ni los cocobacilos de tinción bipolar.

Resulta, por tanto, evidente la gran distancia morfológica que las separa de la *B. magna*, lo cual obliga a considerar a esta última como una nueva especie autónoma, siquiera sea de un modo provisional, hasta tanto que el progreso en el estudio de esta clase de parásitos per-

mita, con el conocimiento de sus caracteres bioquímicos y patogénicos, lograr una identificación con base más sólida que la puramente morfológica. Por el momento, deberá admitirse la existencia de las siguientes bartonelas bovinas: *B. bovis* (Donatien y Lestoquard); *B. sergenti*



Bartonella wenyoni
Repárese en la situación principalmente marginal y en la forma cocoide de los elementos.
(Según Nieschulz).

(Adler y Ellenbogen), y *B. magna* (Isidoro García). En cuanto a la *B. wenyoni*, de Nieschulz, falta dilucidar si, en efecto, debe ser incluída entre las bartonelas o los eperythrozoon, puesto que su morfología y tamaño se acercan mucho más a la de estos últimos.

CONCLUSION

A las bartonellas ya conocidas de los bóvidos, debe agregarse una nueva especie autónoma: la *B. magna* (Isidoro García), cuyo tamaño y morfología excepcionales le prestan gran interés para el estudio general de esta clase de parásitos.

SUMMARY

To the bartonellas, already known, of the bovidae, a new autonomous species must be added: the B. magna (Isidoro García) which aberrant size and morphology gives them a great interest for the general study of this kind of parasite.

ACTAS DE LA SOCIEDAD

ACTA DE CONSTITUCION DE LA SOCIEDAD DE MICROBIOLOGOS ESPAÑOLES

A las veinte horas del día diecinueve de junio de mil novecientos cuarenta y seis, en la Ciudad de Madrid, calle de Serrano, número ciento diecinueve, domicilio del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, que alberga a la Sociedad Española de Microbiologos, se reunieron los Srs. siguientes: D. Juan Marcilla Arrazola, Presidente de la Junta Provisional de la Asociación; D. Miguel Benlloch Martínez (Vocal); D. Ricardo Salaya León (Vocal); D. Pedro Carda Gómez (Vocal), y D. Lorenzo Vilas López (Secretario), con el propósito de constituir la mencionada Sociedad.

Leída por el Secretario la notificación de la Autoridad en que se traslada la autorización concedida por el Ministerio de la Gobernación, de fecha 30 de marzo de 1946, para constituir la Sociedad, acordaron los reunidos dar por constituída la SOCIEDAD DE MICROBIOLOGOS ESPAÑOLES, comunicar a la Autoridad esta constitución y empezar las actividades de la Sociedad de acuerdo con las Estatutos y Reglamento aprobados por el mencionado Ministerio.

Sin más asuntos que tratar, se levantó la sesión a las veinte horas y treinta minutos, del día expresado en el encabezamiento.

Todo lo cual testifico, como secretario, en Madrid, fecha ut supra, acompañando a las firmas del señor Presidente y de los Vocales presentes. *Juan Marcilla.—Lorenzo Vilas.—Miguel Benlloch.—Ricardo Salaya.—Pedro Carda.*

ACTA DE LA REUNION DE LA SOCIEDAD DE MICROBIOLOGOS ESPAÑOLES, CELEBRADA EL DIA 8 DE JULIO DE 1946

En la Sala de Conferencias del Instituto «Alonso Barba», a las once y media de la mañana, del día 8 de julio de 1946,bajo la presidencia de D. Juan Marcilla, se reunieron los socios de la Sociedad de Micro-

biólogos Españoles, que habían sido convocados de acuerdo con la lista de Asistentes y Adheridos a la Reunión de 1945.

Abierta la sesión por el Sr. Presidente, relató, él mismo, las principales diligencias efectuadas desde el año 1945 para lograr la constitución de la Sociedad. La presentación y aprobación del Estatuto y Reglamento al Consejo de Investigaciones Científicas, y la presentación de los mismos al Ministerio de la Gobernación, siendo autorizados por ambos organismos tanto los Estatutos, como el Reglamento, en la forma que aparecen impresos en el folleto que se distribuyó a los asistentes, y cuya copia, reintegrada y autorizada por el Ministerio de la Gobernación, obra en esta Secretaría, fueron los puntos principalmente tratados.

A continuación, el Sr. Presidente solicitó la opinión de los reunidos acerca de la redacción de los Estatutos y Reglamento, acordándose, a propuesta del Sr. Nájera, que en la próxima sesión se proponga una reforma de redacción de los Estatutos, consistente en lo siguiente: «El artículo 5.º de los Estatutos quedará redactado de este modo:

Art. 5.º La Sociedad de Microbiólogos Españoles estará integrada por las siguientes ramas:

I.—Bacteriología.
II.—Inmunología.
III.—Micología.
IV.—Protozoología.
V.—Viriología.
VI.—Microbiología Sistemática.
VII.—Microbiología Aplicada.
VIII.—Microbiología Patológica.

Cada una de estas ramas comprenderá todas las especialidades y aspectos microbiológicos, tanto desde el punto de vista científico puro, como desde el de la aplicación.»

El Sr. Presidente anunció que la Junta Provisional cesaba en sus funciones y que se debía elegir una Mesa para presidir la elección de nueva Junta. El Sr. Gallardo propuso que, por aclámación, se ratificase en la Presidencia y Secretaría a D. Juan Marcilla y al que suscribe, respectivamente, para poder dirigir la elección. Se acordó así, nombrándose escrutadores a los señores Carda y Regueiro y a la señorita López Díaz; levantándose la sesión durante cinco minutos para que los señores asistentes redactasen sus papeletas.

Reanudada la sesión, procedieron los escrutadores a la lectura y cómputo de votos, lo mismo de los presentes que de los remitidos por

correo, arrojando el siguiente resultado, del que solamente hacemos constar la persona que ha logrado mayoría de votos para cada cargo, dentro de los 66 votos emitidos:

Presidente.—D. Juan Marcilla Arrazola, 64 votos.
Vicepresidente.—D. Gerardo Clavero del Campo, 52 votos.
Secretario.—D. Lorenzo Vilas López, 64 votos.
Bibliotecario.—D. Ricardo Salaya León, 46 votos.
Tesorero.—D. Miguel Benlloch Martínez, 52 votos.
Vocal de Bacteriología.—D. Valentín Matilla, 44 votos.
Vocal de Inmunología.—D. José García Bengoa, 45 votos.
Vocal de Micología.—D. José de Benito Martínez, 46 votos.
Vocal de Protozoología.—D. Luis Nájera, 48 votos.
Vocal de Viriología.—D. Eduardo Gallardo, 52 votos.
Vocal de Microbiología Sistemática.—D. Arnaldo Socias, 45 votos.
Vocal de Microbiología Aplicada.—D. Rafael Ibáñez, 44 votos.
Vocal de Microbiología Patológica.—D. Pedro Carda, 44 votos;

quedando constituída, por consiguiente, la Junta de la Asociación con los nombres que se acaban de reseñar.

Don Juan Marcilla dió las gracias a los electores en nombre de la nueva Junta, y se procedió a elegir representante de la Asociación en el Comité de Organización del Congreso Internacional, designándose a D. Juan Marcilla, al mismo tiempo que se propuso y acordó que continuase de segundo representante D. Antonio Ruiz Falcó, que ya tenía este cargo en la Asociación Internacional de Microbiología en la época anterior al año 1936.

Se acordó que la reunión general se celebrase en el próximo mes de noviembre, en la fecha que fijará oportunamente la Junta Rectora. Las reuniones periódicas de los asociados de Madrid se efectuarán los primeros lunes de cada mes, empezando en el próximo octubre, a las siete de la tarde en el Instituto «Alonso Barba».

Se notificará a los microbiólogos portugueses la constitución y normas de esta Asociación.

El Padre Juan Puiggrós presentó una comunicación científica, titulada: «Una cepa española del Myc. Laeprae (Hansen) L. Et». Dejándose la discusión detallada para la próxima reunión.

Y no habiendo más asuntos que tratar, levantó el Sr. Presidente la sesión, de la que certifico, como Secretario de la Sociedad, en Madrid, fecha ut supra.

ACTA DE LA SESION CELEBRADA POR LA SECCION DE MADRID, DE LA SOCIEDAD DE MICROBIOLOGOS ESPAÑOLES, EL DIA 7 DE OCTUBRE DE 1946

En la Sala de Conferencias del Instituto «Alonso Barba», a las siete y media de la tarde, del día mencionado en el encabezamiento, se reunió la Sección de Madrid de la Sociedad Española de Microbiólogos, bajo la presidencia del que lo es de la Sociedad, D. Juan Marcilla.

El Presidente dirigió la palabra a los reunidos, haciendo resaltar que era la primera sesión ordinaria celebrada por la Sociedad, exhortando a los numerosos miembros presentes a no cejar en su apoyo a la misma asistiéndola con su presencia y con envíos de comunicaciones para las sesiones, y trabajos para la Revista.

El Secretario relató las reuniones que ha celebrado la Junta Directiva durante el verano y las normas adoptadas en ellas.

El Sr. Salaya lee un proyecto de carta circular, pidiendo a los socios la remisión cumplimentada de las fichas en que han de figurar los libros existentes en las Bibliotecas de los Centros microbiológicos y de los socios de número.

Se acordó trasladar el lugar de reunión de la Sociedad al edificio que posee el Consejo de Investigaciones, en la calle de Medinaceli, núm. 4.

A petición del Sr. Salaya se acordó difundir el conocimiento de la Sociedad entre los círculos afines a cada uno de los socios. El mismo señor pide la elaboración de métodos normalizados para el reconocimiento bacteriológico de aguas, y los demás problemas que requiera la comparación entre los resultados obtenidos en los diversos laboratorios.

El Sr. Moreno de Vega opina que sería conveniente convocar una sesión especial para cada uno de los temas que requieran normalización de técnicas, anunciando la sesión con tiempo conveniente para que, aparte del ponente, puedan presentar los socios las comunicaciones que deseen sobre el tema de los estudios.

El Sr. Ibáñez pide que los socios informen en las reuniones sobre los asuntos que están tratando en sus laboratorios, siempre que esto sea compatible con la conveniencia profesional.

El Sr. Clavero pide que se revisen los trabajos posteriores a la guerra española y sean descritos en las sesiones de la Sociedad, considerándoselos como comunicaciones nuevas.

El Sr. Nájera manifiesta que sería oportuno empezar las sesiones ordinarias con una conferencia sobre un tema marcado de antemano. Algunos socios discuten la propuesta, pidiendo aclaraciones sobre la

misma; acordándose en definitivo que se pronuncie esta conferencia, con una duración límite de media hora, solicitándose aclaraciones durante diez minutos; siendo preferible pedir las aclaraciones, por escrito, al socio que la hubiere pronunciado, quien contestará en el momento que lo estime oportuno.

Se acuerda que la conferencia de la próxima sesión la pronunciará el Sr. Nájera, tratando de la «Guerra parasitológica».

Para poder presentar comunicaciones en las sesiones ordinarias será necesario comunicar el título de las mismas al Secretario de la Sociedad, quien anotará las que reciba antes del lunes precedente al de la sesión y lo comunicará, en carta circular, a todos los asociados.

A continuación, el Sr. Presidente declaró levantada la sesión. Lo que certifico en Madrid a 8 de octubre de mil novecientos cuarenta y seis.

ACTA DE LA SESION CELEBRADA POR LA SECCION DE MADRID DE LA SOCIEDAD DE MICROBIOLOGOS ESPAÑOLES, EL DIA 4 DE NOVIEMBRE DE 1946

En los locales del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, situados en Medinaceli, 4, a las siete de la tarde del día citado en el encabezamiento, se reunió la Sección de Madrid, bajo la Presidencia de D. Juan Marcilla.

Abierta la sesión, el Secretario leyó el acta de la sesión anterior, que fué aprobada; a continuación, el socio D. Rafael Ibáñez leyó una comunicación, titulada «Nueva técnica para la extracción de sangre de animales de laboratorio y su aplicación al hemocultivo seriado en ratones». Terminada la lectura, intervienen los señores Carda, Callao y Gallardo, pidiendo algunas aclaraciones y manifestando el deseo de que se pruebe la técnica del Sr. Ibáñez en animales superiores. El Sr. Ibáñez comunica que el director del Instituto Nacional de Sanidad le ha autorizado para hacer una demostración del método a los asociados, por lo que invita a éstos a la demostración práctica, que hará el miércoles día 6, a las cuatro de la tarde, en los laboratorios del Instituto Nacional de Sanidad, en la Ciudad Universitaria.

A continuación, el asociado D. Isidoro García lee una comunicación, titulada «Aportaciones al conocimiento de las Bartonelas bovinas»; terminada su lectura, contestó a las preguntas del Sr. Carda, ofreciéndose a examinar los casos de bartonelosis bovina que actualmente se presentan en el Matadero de Madrid, y agradeciendo que se le envíe el material sospechoso que los socios puedan encontrar para completar el estudio de estos microorganismos. El Sr. Nájera presenta algunos

reparos a la comunicación del Sr. García, que presenta como conclusión el descubrimiento de una especie nueva, a la que llama Bartonela magna bovis, porque el estudio del nuevo parásito se ha hecho con preparaciones obtenidas de un animal sacrificado horas antes de ser examinado, por presentar el parásito una morfología muy distinta de las típicas Bartonelas y porque, la designación propuesta por el Sr. García, induce a pensar que lo encontrado es una subespecie y no una especie nueva. El Sr. García aclaró lo dicho por el Sr. Nájera y acepta el cambio de nombre elegido para la nueva especie, dejándolo en el de Bartonela magna.

El socio Sr. Salaya, que fué encargado en la sesión anterior de iniciar las tareas para la normalización de algunas técnicas, expone las razones por las que es necesario hacer un estudio conducente a encontrar un método de examen bacteriológico higiénico de las aguas potables que pueda recomendarse a las autoridades sanitarias como método más útil para esta clase de determinaciones. Varios asociados proponen métodos para llegar a esta recomendación, acordándose que el Sr. Salaya redacte un guión de los trabajos experimentales que deban hacerse en diferentes laboratorios de diversas ciudades españolas para llegar a la suficiente cantidad de datos experimentales que avaloren la recomendación final. Este guión será traído por el Sr. Salaya a la discusión y aprobación de la Sociedad, pidiendo después a los organismos oficiales autorizados que abonen los gastos de personal y material que acarrearán estos estudios tan interesantes para la microbiología y la higiene de nuestra patria.

El Dr. Martínez Mata pide que la Sociedad se una al acto científico y de homenaje que está recibiendo actualmente en Madrid el doctor Ecker, de los Estados Unidos, y se acordó celebrar una entrevista con dicho Sr. y determinar los actos más convenientes para demostrar el aprecio que la Sociedad siente por el Dr. Ecker y sus valiosos trabajos.

Sin más cosas que tratar, el Sr. Presidente levantó la sesión.

Madrid, 4 de noviembre de 1946.

ACTA DE LA SESION CELEBRADA POR LA SECCION DE MADRID DE LA SOCIEDAD DE MICROBIOLOGOS ESPAÑOLES, EL DIA 2 DE DICIEMBRE DE 1946

En los locales del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, situados en Medinaceli, 4, a las siete y media del día citado en el encabezamiento, se reunió la Sección de Madrid, bajo la Presidencia de D. Juan Marcilla.

Abierta la sesión por el Presidente, se leyó el acta de la anterior, que fué aprobada. A continuación, el socio Sr. Blanco Loizelier, leyó una comunicación, titulada «Contribución al estudio bacteriológico de la basquilla». Terminada la lectura, D. Isidoro García menciona los trabajos que hizo anteriormente sobre la misma materia, y no habiendo hallado los mismos resultados que el Sr. Blanco, expone el deseo de intercambiar con él métodos de trabajo para poder cotejar las conclusiones. El Sr. Carda dice que la ponencia es fruto de cinco años y que pone a disposición del Sr. García las 115 estirpes aisladas durante la investigación, y ruega al mismo le envíe la cepa de Oedematiens que él aisló. El Sr. Callao, hablando en nombre del Sr. Talavera (actualmente ausente en Norteamérica), expone los resultados a que dicho señor llegó en sus investigaciones sobre el mismo tema, que coincide en general con la ponencia del Sr. Blanco Loizelier. El Sr. Blanco, indica que al Sr. Talavera le faltó demostrar la toxicidad del contenido intestinal. D. Rafael Ibáñez expuso su deseo de que se repase el trabajo del Sr. García, porque puede haber más de un tipo de basquilla con etiologías distintas. Por este motivo no debe darse por terminado este asunto, sino continuar las experiencias, ya que tal vez esto conduzca a nuevos hallazgos sobre la basquilla. El Sr. Carda, abundando en las mismas ideas que el Sr. Ibáñez, invita al Sr. García a que traiga sus trabajos a la Sociedad en forma de comunicación. El Sr. García indica que en la ponencia del Sr. Blanco no figura el cumplimiento de alguno de los postulados de Koch, tradicionalmente admitidos para identificar a los gérmenes como electrolitos etiológicos de enfermedades determinadas. El Sr. Blanco le contesta que la parte referente al estudio de la enfermedad, tanto natural como experimental, no figura en la comunicación leída, porque forma parte de las que se presentan en otras entidades más relacionadas con la patología. A propuesta del Sr. Presidente, se acordó que todas las intervenciones efectuadas para comentar y aclarar las comunicaciones leídas en la Sociedad, sean publicadas en la Revista de la misma.

A propuesta de la Presidencia se acordó, por aclamación, nombrar miembro de honor de la Sociedad al profesor Alberto Bessemans, de la Universidad de Gante (Bélgica). Igualmente elevar una petición al Consejo de Investigaciones sugiriéndole el deseo de esta Sociedad de que el profesor E. E. Ecker, de la Universidad de Cleveland (Estados Unidos), sea nombrado Consejero de honor del Consejo Superior de Investigaciones.

Se aprobó la inclusión en la lista de socios de los siguientes señores: D. Carlos Sánchez Botija, presentado por los socios señores Carda y Bengoa; D.ª Carmen Pérez Escudero, presentada por los señores Salaya

y Vicente; D. Pablo Delgado, presentado por los socios señores Salaya y Vicente; D. Adolfo Herrera Sánchez, presentado por los señores Bengoa y García; D. Sebastián Miranda Entrenas, presentado por los señores Morales y Martín; D. Francisco Pino, presentado por los señores Carda y Bengoa; D. José Ruiz Marino, presentado por los socios señores Ibáñez y Vilas.

Sin más asuntos que tratar se levanta la sesión.

OTRAS ACTIVIDADES DE LA SOCIEDAD

BIBLIOTECA

Carta propuesta por esta Biblioteca, y aprobada por la Sociedad, que será remitida a los señores Socios, y con la que damos comienzo a los trabajos de esta Sección.

Madrid, *de* 1947.

Sr. D.

Art. 4.º (Estatutos), apartado *b*): «Recopilación de toda la bibliografía española sobre Microbiología.»

Art. 5.º (Reglamento): «La recopilación de la bibliografía microbiológica española se realizará del modo siguiente:
1.º Desde 1900 hasta la fecha.
2.º De 1900 a los orígenes de las especialidades.»

Art. 7.º (Reglamento), apartado 2.º: «Todo Socio o Centro perteneciente a nuestra Sociedad queda obligado a poner su biblioteca a disposición del Servicio de fotocopia.»

Dirección para las contestaciones:

Consejo Superior de Investigaciones Científicas: Sociedad de Microbiólogos. (Biblioteca.)—Serrano, 119.—*Madrid.*

Mi estimado consocio: Para dar cumplimiento al apartado *b*) del art. 4.º de los Estatutos, así como el art. 5.º y el apartado 2.º del art. 7.º del Reglamento de nuestra Sociedad, le agradeceré me remita, lo antes posible, referencia de los libros, folletos, revistas, etcétera, de su propiedad, que traten asuntos relativos a nuestras diversas secciones (Bacteriología, Inmunología, Micología, Protozoología, Viriología y Microbiología sistemática, aplicada y patológica), y proceder con la mayor rapidez a la formación del fichero de nuestra biblioteca y a la organización del interesantísimo servicio de fotocopia.

Asimismo tengo el honor de comunicarle que, según acuerdo tomado por la Sociedad en sesión celebrada el pasado mes de octubre, se ruega a los señores Socios hagan donación a esta Biblioteca de un ejemplar de cada una de las publicaciones de que sean autores únicos, y también de aquéllas en que tomaran parte como colaboradores.

Adjunto le envío una papeleta para que, con relación a ella, nos remita sus notas, que pueden ser, para su mayor comodidad, en la forma del modelo o en la de lista, siempre que se consigne en ella los mismos datos que en que la papeleta se indican.

Sin más que comunicarle y en espera de su grata respuesta, queda de usted, s. s. s. q. s. m. e.,

Ricardo Salaya León.

Datos que deben tenerse en cuenta y orden que debe seguirse para la redacción de las papeletas que los Socios remitan a nuestra Biblioteca:

1.º Autor o autores (apellidos, nombre).
2.º Título de la obra (como esté en la portada o contraportada).
3.º Traductor.
4.º Número de la edición.
5.º Lugar de publicación.
6.º Firma editora e imprenta.
7.º Fecha de publicación.
8.º Número de páginas, del prólogo, del texto, número de grabados y número de láminas.
9.º Encuadernación.
10.º Colección a que pertenece la publicación.
11.º Biblioteca a que pertenece el ejemplar reseñado.

Nos comunican algunos queridos consocios que han dado comienzo a la formación de fichas o listas de sus bibliotecas, y en poder nuestro están ya algunos avances de estos trabajos, con lo que se podrá dar comienzo a la formación de nuestros ficheros tan pronto como dispongamos del menaje correspondiente, que será muy en breve, gracias a la actividad y cariño con que son atendidas todas nuestras demandas, tanto por el C. S. de I. C., como por nuestros queridos y respetados Presidente y Secretario.

PRIMERA LISTA DE SEÑORES SOCIOS DE LA SOCIEDAD DE MICROBIOLOGOS ESPAÑOLES

ALAS CORES (Genaro).—*Ingeniero Agrónomo. Instituto «Ramón y Cajal»*. Alfonso XII, 3. Madrid.

ALCARAZ MIRA (Enrique).—*Ingeniero Agrónomo. Director de la Estación de Estudios del Tabaco*. Santiponce (Sevilla).

AZNAR (Pilar).—*Instituto «Ramón y Cajal»*. Alfonso XII, 3. Madrid.

BAQUERO GIL (Gregorio.)—*Dr. en Medicina. Jefe del Laboratorio del Hospital del Rey*. Madrid.

BALEN (José).—*Catedrático de la Facultad de Medicina*. Sevilla.

BARRIOS (Dulce María).—*Inspector Veterinario*. San Bernardo, 118. Madrid.

BLANCO DIEZ DEL VALLE (Juan).—*Instituto Oceanográfico*. Madrid.

BLANCO LOIZELIER.—*Instituto de Biología Animal*. Embajadores, 68. Madrid.

BEATO GONZALEZ (F.).—*Dr. en Medicina. Delegación Provincial de Higiene*. La Coruña.

BENITO MARTINEZ (José de).—*Ingeniero de Montes. Instituto Forestal de Investigaciones y Experiencias.* Núñez de Balboa, 49. Madrid.

BENLLOCH MARTINEZ (Miguel).—*Director de la Estación Central Fitopatológica Agrícola.* Miguel Angel, 17. Madrid.

BERMUDEZ PAREJA (Manuel).—*Centro Técnico de Farmacobiología.* General Mola, 54. Madrid.

BUSTINZA LACHIONDO (Florencio).—*Catedrático de la Facultad de Ciencias.* Madrid.

CALLAO FABREGAT (Vicente).—*Dr. en Medicina y en Farmacia. Instituto Nacional de Sanidad. Instituto Ibys.* Bravo Murillo, 49. Madrid.

CAMACHO BAÑOS (Ildefonso).—*Laboratorio Municipal.* Sevilla.

CARIDAD (José María).—*Ingeniero Agrónomo. Centro de Estudios del Tabaco.* Santiponce (Sevilla).

CARDA (Pedro).—*Veterinario. Instituto de Biología Animal.* Embajadores, 69. Madrid.

CLAVERO DEL CAMPO (Gerardo).—*Doctor en Medicina y en Farmacia. Director del Instituto Nacional de Sanidad.* Ciudad Universitaria. Madrid.

COLOMO (V.).—*Facultad de Veterinaria.* Embajadores, 70. Madrid.

COLOMO DE LA VILLA (Gabriel).—*Facultad de Veterinaria.* Embajadores, 70. Madrid.

CRUZ (J).—*Gerente de Bioquímica Española, S. A.* Palencia.

DIEZ MARTIN (Carlos).—*Veterinario Militar.* Carretera de Valencia, 8. Madrid.

DOMINGUEZ FERNANDEZ (Francisco).—*Doctor en Farmacia.* Santa Teresa, 9. Madrid.

FE OLIVARES (Inocente).—*Ingeniero Agrónomo. Jefatura Agronómica de* Santander.

FEDUCHY MARIÑO (Enrique).—*Ingeniero Agrónomo. Instituto «Ramón y Cajal».* Alfonso XII, 3. Madrid.

FERNANDEZ DE BOBADILLA (Gonzalo).—*Ingeniero Agrónomo.* Jeréz de la Frontera (Cádiz).

FERNANDEZ PELLICER (E.).—*Director del Laboratorio Municipal de Análisis Químico.* Hospital de San Pablo. Barcelona.

GALLARDO (Eduardo).—*Doctor en Medicina. Instituto Nacional de Sanidad.* Ciudad Universitaria. Madrid.

GALLEGO QUERO (FÉLIX).—*Secretario de la Escuela Especial de Ingenieros de Montes.* Ciudad Universitaria. MADRID.

GARCIA BENGOA (JOSÉ).—*Laboratorio Central de Veterinaria Militar.* Núñez de Balboa, 66. MADRID.

GARCIA BEROSATEGUI (PABLO).—*Escuela Nacional de Sanidad.* Hilarión Eslava, 2. MADRID.

GARCIA CASTELLON (FERNANDO).—Almirante, 19. MADRID.

GARCIA DE MIRASIERRA (MANUEL).—*Instituto Provincial de Sanidad.* CIUDAD REAL.

GARCIA RODRIGUEZ (ISIDORO).—*Jefe de la Sección de Veterinaria del Instituto Llorente.* Ferraz, 9. MADRID.

GARZON PAREJA (MIGUEL).—*Industria lechera.* TORRELAVEGA (Santander).

GASTON DE IRIARTE SANCHIZ (ELISEO).—*Doctor en Farmacia.* Almirante, 15, MADRID.

GONZALEZ (PEDRO).—*Director del Laboratorio Bacteriológico Municipal de* BARCELONA. Wellington, 44.

GONZALEZ MATEOS (JOAQUÍN).—*Doctor en Farmacia. Instituto Llorente.* Ferraz, 9. MADRID.

GRIFOLS LUCAS (VÍCTOR).—*Químico y Farmacéutico.* Rambla de Cataluña, 102. BARCELONA.

GRIFOLS ROIG.—*Bacteriología Clínica.* Rambla de Cataluña, 102. BARCELONA.

HERRERA SANCHEZ (ADOLFO).—*Veterinario.* Ponzano, 29. MADRID.

HIDALGO FERNANDEZ CANO (LUIS).—*Ingeniero Agrónomo. Estación de Ampelografía.* Castelló, 27. MADRID.

IBAÑEZ GONZALEZ (RAFAEL).—*Doctor en Medicina. Instituto Nacional de Sanidad.* Ciudad Universitaria. MADRID.

JORDAN DE URRIES (FRANCISCO).—*Jardín Botánico.* MADRID.

LAMANO FERNANDEZ (JOAQUÍN).—*Instituto Provincial de Sanidad.* CIUDAD REAL.

LASTRA SOUVRIER (JOSÉ MARÍA DE LA).—*Doctor en Medicina. Instituto Nacional de Sanidad.* Claudio Coello, 67. MADRID.

LOPEZ DIAZ (MANUELA).—*Facultad de Farmacia.* MADRID.

LUENGO (EMILIO).—*Laboratorio de Análisis del Canal de Isabel II.* MADRID.

MANSO RODRIGUEZ (FAUSTINO).—*Veterinario. Director técnico de los Laboratorios Beca, S. L.* LUGO.

MATILLA GOMEZ (Valentín).—*Catedrático de Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina.* Madrid.

MEJIAS (Gabriel).—*Instituto Llorente.* Ferraz, 9. Madrid.

MEJIAS (Jacinto).—*Director del Instituto Llorente.* Ferraz, 9. Madrid.

MARCILLA ARRAZOLA (Juan).—*Director del Instituto «Ramón y Cajal».* Alfonso XII, 3. Madrid.

MARTIN ORTIZ (Miguel).—*Laboratorio Central de Veterinaria Militar.* Núñez de Balboa, 66. Madrid.

MARTINEZ LOPEZ (Miguel Ignacio).—Zurita, 43, Madrid.

MARTINEZ MATA (Justo).—*Médico y Farmacéutico. Centro Técnico de Farmacobiología.* General Mola, 54. Madrid.

MARTINEZ PIQUERAS (Vicente).—*Farmacéutico.* Avila.

MESTRE (Cristóbal).—*Director de la Estación de Viticultura y Enología.* Villafranca del Panadés (Barcelona).

MIRANDA ENTRENAS (Sebastián).—*Veterinario.* Córdoba.

MORAGAS (Ricardo).—*Director de los Laboratorios del Hospital de Santa Cruz y San Pablo.* Barcelona.

MORALES HERRERA (Angel).—*Laboratorio Central de Veterinaria Militar.* Núñez de Balboa, 66. Madrid.

MORENO DE VEGA (Florencio).—*Subdirector del Instituto Llorente.* Ferraz, 9. Madrid.

MORIANO VALENZUELA (Rafael).—*Veterinario Militar. Laboratorio Central de Veterinaria Militar.* Núñez de Balboa, 66. Madrid.

NAJERA (Luis).—*Doctor en Medicina. Instituto Nacional de Sanidad.* Ciudad Universitaria. Madrid.

OLALQUIAGA (Ramón).—*Ingeniero Agrónomo Director de la Ventosilla.* Aranda de Duero (Burgos).

OLIVE SUÑE (J.)—*Doctor en Farmacia.* Avenida de José Antonio, 671. Barcelona.

ORTIZ PICON (José María).—Viriato, 76. Madrid.

PEÑA YAÑEZ (Julián).—*Doctor en Medicina. Hospital del Rey.* Madrid.

PEREZ BONDIA (Juan).—*Laboratorio Central de Veterinaria Militar.* Núñez de Balboa, 66. Madrid.

PEREZ ESCUDERO (Carmen).—*Facultad de Farmacia.* Madrid.

PEREZ PARDO (Justiniano).—*Instituto Nacional de Sanidad.* Ciudad Universitaria. Madrid.

PINO (Francisco).—*Farmacéutico.* Fomento, 3. Madrid.

PUIGGROS (Juan S. J.).—*Instituto Biológico de Sarriá.* Dr. Amigant, 14. Barcelona (Sarriá).

RAFOLS (Wifredo de).—*Director de la Revista «Euclides».* Guzmán el Bueno, 48. Madrid.

REGUEIRO VARELA (Benito).—*Doctor en Farmacia.* Marqués de Cubas, 3. Madrid.

REMIS DE PRADO (Juan Manuel).—*Laboratorio Municipal de Madrid.* Bailén, 41. Madrid.

REUS CID (Antonio).—*Estación de Química Agrícola.* Castelló, 27. Madrid.

RODRIGUEZ ILLERA (Luis).—*Doctor en Medicina. Instituto Nacional de Sanidad.* Ciudad Universitaria. Madrid.

RODRIGUEZ SARDIÑA (Juan).—*Ingeniero Agrónomo. Estación de Fitopatología de Galicia.* Granja Agrícola. La Coruña.

ROSELL (José María).—*Director del Instituto de Bacteriología Radicícola.* Santa Eulalia, 65. Barcelona (Sarriá).

RUIZ FALCO (Antonio).—*Doctor en Medicina. Director del Instituto Ibys.* Bravo Murillo, 49. Madrid.

SAIZ MORENO (Laureano).—*Veterinario. Instituto Provincial de Sanidad.* Ciudad Real.

SALAYA LEON (Ricardo).—*Doctor en Farmacia y Ciencias. Laboratorio Municipal de Madrid.* Bailén, 41. Madrid.

SANCHO PEÑASCO (Félix).—*Ingeniero Agrónomo. Instituto de Cearicultura.* Zorrilla, 7. Madrid.

SANTAMARIA LEDOCHOWSKI (Juan).—*Ingeniero Agrónomo. Bioquímica Española, S. A.* Palencia.

SANZ IBAÑEZ (Julián).—*Doctor en Medicina. Catedrático de Histología y Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad de* Madrid.

SOCIAS AMOROS (A.)—*Doctor en Medicina y Ciencias. Instituto Nacional de Sanidad.* Ciudad Universitaria. Madrid.

SOROA Y PLANA (José María de).—*Ingeniero Agrónomo. Estación de Química Agrícola.* Castelló, 27. Madrid.

TALAVERA BOTO (Juan).—*Veterinario. Instituto Ibys.* Bravo Murillo, 49. Madrid.

TORREIRA (Ramiro).—Alburquerque, 6. Madrid.

TORRES CANAL (Lucas).—*Doctor en Farmacia. Director del Laboratorio Municipal de* Madrid. Bailén, 41.

URIOSTE OTERMIN (RAMÓN).—*Médico bacteriólogo.* Velázquez, 53. MADRID.

URQUIJO LANDALUCE (PEDRO).—*Ingeniero Agrónomo. Director de la Estación de Fitopatología Agrícola de* LA CORUÑA.

VAAMONDE FERNANDEZ (JOAQUÍN).—*Médico. Director del Instituto Provincial de Sanidad.* CIUDAD REAL.

VALCARCEL SANCHEZ (FAUSTO FRANCISCO).—*Instituto de Biología Animal.* Embajadores, 69. MADRID.

VICENTE JORDANA (ROMAN).—*Facultad de Farmacia.* Ciudad Universitaria. MADRID.

VILA FERRAN (JUAN).—*Instituto Ferrán.* Garcilaso, 206-232. BARCELONA (16).

VILAS LOPEZ (LORENZO).—*Catedrático de la Facultad de Farmacia de* MADRID.

XANDRI TAGUEÑA (JOSÉ MARÍA).—*Ingeniero Agrónomo. Estación de Química Agrícola.* Castelló, 27. MADRID.

ZAPATERO (EMILIO).—*Catedrático de Higiene de la Facultad de Medicina de* VALLADOLID.

SECCION DE BIBLIOGRAFIA

Cumpliendo lo ordenado en nuestro Reglamento damos hoy a conocer la primera lista de publicaciones, que tienen a su disposición los señores Socios por intermedio de la Secretaría y servicio de fotocopias.

Las iniciales que van al final de cada nota corresponden al Centro en que se encuentra la publicación en ellas indicada, y cuya interpretación se dará siempre al comienzo de las listas. Si aquéllas pertenecieran a bibliotecas personales de los señores Socios se indicará, siempre al final de la nota y entre paréntesis; el nombre, apellidos y dirección del propietario de la publicación. Si existieran en varias bibliotecas la misma publicación se citarán todas, y sólo en el caso de ser excesivamente numerosas las referencias se hará selección de las mismas.

L. M. M. = Laboratorio Municipal de Madrid.

I. E. E. = Instituto Español de Edafología, Ecología y Fisiología vegetal.

GALLOWAY, L. D. Y BURGESS, R.—*Aplied Micology and Bacteriology.* 2.ª Edición.—London.—*Ed. Leonard Hill, limited.*—186 pág. + lám. I-V. 21,5 cm. Tela. 1946. L. M. M.

HUTIRA, F.; MAREK, J. Y MANNINGER, R.—*Patología y Terapéutica Especiales de los Animales Domésticos.*—Traductor: P. FARRERAS, de la 8.ª edieión.—Barcelona. *Ed. Labor, S. A.*—Dos volms. 739 grab. inter. + lám. I-XXI, en color. 24 cm. Tela. 1947. L. M. M.

LOPEZ DIAZ, M.—*Microbiología de la leche.*—Madrid.—*Ed. Anales Real Academia de Farmacia.* Año XII, n. 3; pág. 305-348. 1946. L. M. M.

MACKIE, T. J. y Mc. CARTNEY, J. E.—*Hand-book of Practical Bacteriology.* 7.ª Edic—. Edinburg.—*Ed E. And S. Livingstone, Limited.*—719 pág. 21,5 cm. Tela. 1946. L. M. M.

SMITH, G.—*An Introduction to Industrial Mycology.* Prólogo de H. RAISTRICK. 3.ª Edición.—London.—*Ed. Edward Arnold & Co., limited.*—271 pág. + 143 lám. inter. 1946. L. M. M.

I. ABRAHAMS y J. K. MILLER.—*In vitro action of sulfonamides and Penicillin on Actinomyces.—J. of. B.*—LI, 2, p. 145. 1946. I. E. E.

I. H. BAILY y CH. J. CAVALLITO.—*Reversal of antibacterial action.—J. of B.* LI, 5, p. 292. 1946. I. E. E.

M. G. BRAZHNIKOVA.—*The isolation, purification and properties of Litmocidin.—J. of B.*—LI, 6, p. 655. 1946 I. E. E.

N.G. BRINK, F. H. KUEHL, E. H. FLYNN y K. FOLKRES.—*Streptomyces antibiotics, XI. The structure of tetraacetylbisdes-oxistreptobiosamine.—J. of the Am. Chem. Soc.*, 68, II, p. 2.405. 1946. I. E. E.

J. C. CHEEHAN, W. J. MADER y D. J. CRAM.—*A chemical assay method for penicillin G.—J. of the Am. Chem. Soc.* 68, 11, p. 2.407. 1946. I. E. E.

S. S. CHAPMAN, L. L. CORIELL, S. F. KOWAL, W. NELSON y C. M. DOWNS.—*Studies on streptomycin therapy of experimental tuberculosis in White Mice.—J. of B.*—LI, 5, p. 607. 1946. I. E. E.

S. S. CHAPMAN, C. M. DOWNS y S. F. KOWAL.—*Studies on the bacteriostatic and bactericidal action of Streptomycin on bacterium tuberculosis.—J. of Bact.*—LI, 5, p. 606. 1946. I. E. E.

C. H. DRAKE.—*The action of penicillin on several genera of the actinomycetales.—J. of B.* LI, 2, p. 199. 1946. I. E. E.

J. W. FOSTER y H. B. WOODRUFF.—*Bacillin, a new antibiotic substance from a soil isolated of bacillus subtilis.—J. of B.*—LI. 3, p. 363. 1946. I. E. E.

G. F. GAUSE.—*Litmocidin, a new antibiotic substance produced by proactinomyces cymens. J. of B.*— LI, 6, p. 649. 1946. I. E. E.

J. B. HUELSEBUCH, I. W. GIBBY y M. J. FOTER.—*Effect of natural and synthetic rubbers upon the stability of penicillin and streptomycin solutions.—J. of B.*—LI, 5. p. 594. 1946. I. E. E.

A. KELVER.—*A survey of antibiotic production by representative Aspergillus, Penicillium and other fungi from a culture collection.—J. of B.*—LI, 5, p. 570. 1946. I. E. E.

J. E. KEMPF y P. SAYLES.—*The influence of rate of aeration on oxidation-reduction potentials and streptomycin production by actinomyces griseus.—J. of B.*—LI, 5, p.596. 1946. I. E. E.

H. KOPFLER, S. G. KNIGHT, W. C. FRAZIER y R. H. BURRIS.—*Metabolic changes in submerged Penicillin fermentations on synthetic media.—J. of B.*—LI, 3, p. 385, 1946. I. E. E.

G. A. LE PAGE y E. CAMPBELL.—*Preparation of streptomycin.—The J. of Biol. Chem.* 162, 1, p. 163. 1946. I. E. E.

M. O. LIPMAN, J. A. COSS y R. H. BOOTS.—*Changes in the bacterial flora of the throat and intestinal tract during prolonged oral administration of penicillin.—J. of B.*—LI, 5, p. 594. 1946. I. E. E.

E. A. JOHNSON y K. L. BURDON.—*Eumycin,a new antibiotic active against pathogenic fungi and Higher bacteria, including bacilli of tuberculosis and diphteria.»—J. of B.*—LI, 5, p. 591. 1946 I. E. E.

A. KELVER, W. KOCHOLATY, R. JUNOWICKZ-KOCHOLATY y H. E. MORTON.—*Two antibiotics produced by Actinomyces isolated from soil.—J. of B.*—LI, 5, p. 591. 1946. I. E. E.

R. F. PARKER y H. C. MARSH.—*Action of penicillin on Staphylococcus.—J. of B.*—LI, 2, p. 181. 1946. I. E. E.

B. PUETZER y TH. C. GRUBB.—*The action of clavacin, a clavacin isomere and related compounds on tetanus toxin.—J. of Bact.*—LI, 5, p. 592. I. E. E.

G. RAKE y R. DONOVICH.—*Studies on the nutritional requirements of actinomyces griseus for the formation of streptomycin.—J. of B.*—LI, 5, p. 596. 1946. I. E. E.

W. A. RANDALL, H. WELCH, C. W. PRICE y V. L. CHANDLER.—*Present specifications for commercial streptomycin.—J. of B.*—LI, 5, p. 633. 1946. I. E. E.

G. E. ROCKWELL.—*The Ineffectiveness of Streptomycin on tubercular infection.—J. of B.* LI, 5, p. 607. 1946. I. E. E.

A. J. SALLE y G. J. JANN.—*The effect of subtilin in the treatment of experimental infections in animals.—J. of B.*—LI, 5, p. 592. 1946. I. E. E.

J. V. SENDI.—*A colorimetric method for the determination of penicillin.—The J. of Biol. Chem.* 164, 1, p. 183. 1946. I. E. E.

J. V. SENDI y V. C. JELINEH.—*A rapid micromethod for the fluorometric determination of penicillin.—The J. of.Biol. Chem.* 164, 1, p. 195. 1946. I. E. E.

S. A. WAKSMAN y A. SCHATZ.—*Soil enrichsment and development on antagonistic microorganisms.—J. of B.*—LI, 3, p. 305. 1946. I. E. E.

H. B. WOODRUFF y J. W. FOSTER.—*Antibacillin, a naturally occurring inhibitor of bacillin.—J. of B.*—LI, 3, p. 371. 1946. I. E. E.

G. P. YOURMANS y W. H. FELDMAN.—*The sensitivity of tubercle bacille in vitro to the strptomycin.—J. of B.*—LI, 5, p. 608. 1946. I. E. E.